E 2159 4 66 OTÓGYSZER

UNIUNEA SOCIETĂŢILOR DE ŞTIINŢE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

R 1987 APR 2 8

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂŢII DE FARMACIE

„Referálva"

COLEGIUL DE REDACŢIE :

Redactor responsabil : prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct : prof. V. STĂNESCU
Secretari responsabili de redacţie : conf. VASILICA ANTONESCU
prof. ŞT. TĂMĂŞDAN

MEMBRI :

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEŞAN (Cluj-Napoca), prof. V. CIOCĂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iaşi), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iaşi), conf. Z. FÎRŞIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, prof. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, prof. D. OŢELEANU, farm. V. POPOVICI (Timişoara), farm. NICULINA POPA, conf. E. PUŞCARU, conf. N. ŢUCHEL farm. R. VASILIEV

1

IANUARIE — MARTIE 1987

CONTENTS

Page

Gh. Morait, M. Morait, E. Eliopoulos — *Contributions to the dosage of doxycycline (Vibramicin).* Note II. *New methods of chemical and spectrophotometric dosage* 1

Vasilica Antonescu, Sanda Iosif, Irina Predescu, C. Georgescu — *Contributions to the study of* Vaccinum myrtillus *extracts.* Note I. *Physico-chemical analysis* 11

Veronica Nacea, Judith Fülöp — *The spectrophotometric determination of a new compound with analgetic effects: terephtal-di-(N-phenyl)-piperazide* 21

Ioana Saramet, Elena Bădău — *New N-substituted thyoamides* . . . 31

Aneta Verbuță, Ileana Cojocaru, I. Mîndreci, M. Lazăr, Doina Lazăr, N. Olaru, Marinela Pîrnuță, Georgeta Rusu — *The production of tablets containing p-acetylaminobenzoate of dimethylaminoethanole* . . 41

Elena Cristea, Ana Tătaru — *Studies in the series of triazine derivatives* (Note II) 47

P. Petcu, Z. Uray, E. Bordaș, Ecaterina Andronescu — *The effects of Tonobil on hene-marrow erythropoiesis* 55

A. Gyeressi, Klaudia Szantho, L. Fülop — *Determination of the total alcaloid contents, and of hyoscyamine from* Scopoliae luridae radix *and from extracts of Scopolia* 59

Reports

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

Redacția : București, str. Progresului nr. 10, Sectorul I – Telefon 13.89.73 – 14.10.71

VOLUMUL XXXV IANUARIE | MARTIE 1987

Contribuții la dozarea doxiciclinei (Vibramicinei)
Nota II. Noi metode de dozare chimică și spectrofotometrică

Gh. Morait, M. Morait, E. Eliopoulos

Facultatea de Stomatologie și Farmacie,
Laboratorul de chimie analitică

REZUMAT

Folosind reacțiile de precipitare cu heteropoliacizii (acizii silicowolframic, fosfowolframic, silicomolibdenic și fosfomolibdenic) și tetrafenilboratul de sodiu s-au instituit noi metode de dozare gravimetrică pentru doxiciclină. S-au stabilit condițiile de dozare acido-bazică directă în soluții apoase și neapoase (D.M.F.) utilizînd ca titrant acidul silicowolframic în prezența roșului de Congo, precum și două metode de dozare acido-bazică indirectă, determinînd funcția acidă a silicowolframatului de doxiciclină în mediu de D.M.F. cu o soluție de metoxid de sodiu în prezența albastrului de timol sau funcția bazică a tetrafenilboratului de doxiciclină în mediu de acid acetic anhidru cu o soluție de acid percloric, în prezența tropeolinei OO ca indicator.

S-a eliberat și o metodă spectrofotometrică de dozare a doxiciclinei, determinînd absorbanța silicowolframatului de doxiciclină dizolvat în D.M.F., la 380 nm.

Antibiotice
Dozare
Spectrofotometrie

Intr-o lucrare anterioară (1) s-au publicat rezultatele obținute privind reacția de complexare a doxiciclinei cu heteropoliacizii și tetrafenilboratul de sodiu, studii fizico-chimice a complecșilor formați.

Folosind aceste reacții am urmărit să le adaptăm unor noi metode de dozare chimică și fizico-chimică, avînd în vedere avantajele oferite de acestea :

— reacțiile conduc la compuși bine definiți, stabili ;

— reactivii, avînd mase moleculare mari, permit determinarea unor cantități mici de substanță și respectiv instituirea de metode sensibile ;

— reacțiile se pot adapta la cele mai variate metode de dozare atît chimice cît și fizico-chimice etc.

Uitlizînd aceste reacții date de doxiciclină sau heteropoliacizii și tetrafenilboratul de sodiu, s-au stabilit condițiile de dozare chimică (gravimetrică și volumetrică) și fizico-chimică a doxiciclinei.

Dozarea gravimetrică

Metodele stabilite de noi constau în principiu în precipitarea unor probe de doxiciclină cu heteropoliacizii (silicowolframic, fosfowolframic, silicomolibdenic, fosfomolibdenic) și terafenilboratul de sodiu, în soluții apoase la pH ~ 1, creat de acidul clorhidric, cu soluții de reactiv 3%. Precipitatele formate se separă din mediul de formare prin filtrare folosind creuzete filtrante G_4, se spală cu soluție saturată de precipitat pînă cînd apele de spălare nu mai dau reacția ionului Cl^-, după care se aduc la greutate constantă fie prin uscare în exicator de vid (cînd se obțin complecșii hidratați), fie prin încălzire la 130—150° în etuvă (cînd se obțin complecșii anhidri).

Condițiile de prelucrare a precipitatelor au fost stabilite utilizînd datele furnizate de curbele de termoliză a acestor complecși. În general se poate aprecia că există mai multe posibilități de dozare, după existența palierelor orizontale (masa constantă):

— un prim palier orizontal pînă la 40—65°, în funcție de natura precipitatului (corespunzător sărurilor hidratate);

— un al doilea palier orizontal începînd de la temperatura de aproximativ 95° pînă la 210°, corespunzător complecșilor anhidri;

— al treila palier, peste 630°, corespunzător oxizilor ficși.

În tabelul I se prezintă rezultatele obținute la dozarea gravimetrică, prelucrate statistic.

Tabelul I

Rezultatele obținute la dozarea gravimetrică a doxiciclinei, prelucrate statistic

Forma sub care s-a dozat	M	n	s	s_m	α	t_α	A
Silicowolframat	99,79	10	0,07	0,02	0,95	2,262	99,79±0,05
Fosfowolframat	99,72	10	0,09	0,03	0,95	2,262	99,72±0,07
Silicomolibdat	99,75	6	0,06	0,02	0,95	2,571	99,75±0,05
Fosfomolibdat	99,73	6	0,06	0,02	0,95	2,571	99,73±0,05
Tetrafenilborat	99,75	8	0,07	0,02	0,95	2,365	99,75±0,05

Dozarea acido-bazică a doxiciclinei

Heteropoliacizii și-au găsit întrebuințare și în determinări volumetrice ale substanțelor medicamentoase cu care formează combinații greu solubile, printr-o reacție acido-bazică directă. Dintre acești reactivi acidul silicowolframic este cel mai folosit, mai rar acidul fosfowolframic (2).

Titrările se fac în mediu acid, creat de acidul clorhidric, cu o soluție titrată de acid silicowolframic, prinderea punctului de echivalență fiind făcută fie cu indicatorii interni (roșul de Congo, galbenul de metanil) (3), sau externi (verdele de malachit), fie prin metode instrumentale (4, 6).

Folosind această reacție de precipitare a doxiciclinei cu acid silicowolframic, am stabilit o metodă de dozare volumetrică a doxiciclinei. Am utilizat ca indicator roșul de Congo. Funcționalitatea acestuia se bazează pe capacitatea acidului silicowolframic de a forma precipitate, atît cu cationul protonat al doxiciclinei cît și al indicatorului, la începutul titrării fiind adsorbit pe suprafața silicowolframatului de doxiciclină ionul protonat de antibiotic, în soluție rămînînd indicatorul. Pe măsură ce se consumă tetraciclina prin precipitare, aceasta se desoarbe de pe suprafața precipitatului, iar la punctul de echivalență, la un mic exces de reactiv se adsorb ionii silicowolframat, care polarizează cationul protonat al indicatorului, formînd un precipitat colorat în albastru, cu virajul culorii. Roșul de Congo, prin funcțiile bazice din moleculă și grupările azo își modifică și structura moleculară, funcționînd ca indicator acido-bazic.

Tehnica metodei. Se prepară la balonul cotat o soluție aproximativ 0,01—0,005 m de doxiciclină. Din această soluție se iau probe de 10—20 ml, se adaugă 2—3 picături soluție alcoolică de indicator 0,2%, se diluează cu apă distilată la 100 ml și se titrează cu soluție de heteropoliacid pînă la virajul indicatorului.

Pentru calcul se ține seama că doxiciclina funcționează ca bază monoprotică :

1 ml soluție acid silicowolframic 0,005 m.... $\frac{M}{200000}$ g doxiciclină.

În tabelul II se prezintă o parte din rezultatele obținute la dozarea doxiciclinei acido-bazică.

Tabelul II

Rezultatele obținute la dozarea doxiciclinei cu acid silicowolframic, în soluții apoase

g substanță luate în lucru	Găsit la dozare		Eroare față de
	g	%	
0,1146	0,1143	99,74	0,00
0,1247	0,1244	99,76	+0,02
0,1274	0,1271	99,69	—0,05
0,1236	0,1233	99,76	+0,02
0,1354	0,1350	99,78	+0,04
0,1128	0,1125	99,73	+0,01
0,1306	0,1302	99,69	—0,05
0,1172	0,1169	99,74	0,00
0,1284	0,1281	99,77	+0,03
0,1182	0,1179	99,75	+0,01

$n = 10$; $M = 99,74$; $s = 0,03$; $s_m = 0,01$; $\alpha = 0,95$; $t_\alpha = 2,262$;
$A = 99,74 \pm 0,03$

Întrucît titrările în fază heterogenă sînt susceptibile de unele erori, dacă nu se respectă condițiile de lucru și, în plus, desorbția ar putea să nu se producă în măsură cantitativă dacă nu se agită puternic, ne-am adresat solvenților neapoși. Am avut în vedere efectele solvenților asupra celor două funcții acido-bazice asociate din molecula unei

sări, precum și efectul de solubilizare atît asupra substanțelor care se dozează cît și a produșilor de reacție.

De aceea am înlocuit solventul apă cu dimetilformamida (DMF). Acesta prezintă un efect remarcabil de solubilizare asupra complecșilor ; totodată prin protofilia sa asigură nivelarea funcției acide a reactivului. În acest fel se lucrează în sistem omogen tot timpul titrării, iar indicatorul folosit de noi prezintă un viraj net.

În tabelul III se prezintă o parte din rezultatele obținute la dozarea acido-bazică directă în mediu neapos.

Tabelul III

Rezultatele obținute la dozarea doxiciclinei cu acid silicowolframic în DMF

g substanță luate în lucru	Găsit la dozare		Eroare față de M
	g	%	
0,1435	0,1431	99,72	−0,02
0,1583	0,1579	99,75	+0,01
0,1376	0,1372	99,71	−0,03
0,1317	0,1313	99,70	−0,04
0,1408	0,1404	99,72	−0,02
0,1186	0,1183	99,75	+0,01
0,1538	0,1534	99,74	0,00
0,1388	0,1385	99,78	+0,04
0,1256	0,1253	99,76	+0,02
0,1464	0,1460	99,73	−0,01

$n = 10$; $M = 99,74$; $s = 0,025$; $s_m = 0,01$; $\alpha = 0,95$; $t_\alpha = 2,262$; $A = 99,74 \pm 0,02$

Folosind efectele solvenților neapoși am instituit de asmenea două metode de dozare acido-bazică indirecte în mediu neapos. Acestea constau în precipitarea doxiciclinei cu acid silicowolframic și tetrafenilborat de sodiu, în mediu acid. Prin aceste reacții se izolează cantitativ antibioticul dintr-un mediu apoi precipitatul purificat și esorat se dizolvă într-un solvent organic (în DMF) silicowolframatul de doxiciclină și în acid acetic anhidru tetrafenilboratul de doxiciclină, după care se dozează funcția acidă (în cazul silicowolframatului) cu o soluție de metoxid de sodiu 0,1 n, în prezența albastrului de timol și funcția bazică (în cazul tetrafenilboratului de doxiciclină) cu o soluție de acid percloric 0,1 n în acid acetic, în prezența tropeolinei 00.

Solvenții protofilici (DMF) acționează asupra precipitatului de silicowolframat de doxiciclină nivelînd funcția acidă asociată din complex și denivelînd funcția bazică încît precipitatul se poate titra eficient ca un acid. Solvenții protogenici (ex. acidul acetic anh.) nivelează funcția bazică care devine titrabilă și denivelează funcția acidă asociată.

Tehnica metodei. Probe de antibiotic se dizolvă în 80—100 ml apă distilată, se acidulează cu acid clorhidric diluat, se precipită cu soluția de reactiv 3% cantitativ (după tehnica de la gravimetrie), se separă precipitatul folosind creuzetele filtrante G_4, se spală cu soluția saturată de precipitat pînă ce apele de spălare nu mai dau reacția ionului Cl^-, apoi cu apă distilată, se esorează, apoi se dizolvă în 20—30 ml solvent (DMF sau acid acetic anh.) se adaugă 3—4 picături indicator și se titrează pînă la virajul persistent al indicatorului.

Pentru calcul se ține seama că doxiciclina funcționează ca bază monoprotică.

În tabelele IV și V se prezintă o parte din rezultatele obținute la dozare.

Tabelul IV

Rezultatele obținute la determinarea doxiciclinei acido-bazică indirectă, folosind reacția de precipitare cu acidul silicowolframic

g substanță luate în lucru	Găsit la dozare		Eroare față de M
	g	%	
0,1048	0,1045	99,71	0,00
0,1084	0,1081	99,72	+0,01
0,1136	0,1133	99,74	+0,03
0,1274	0,1270	99,69	−0,02
0,1072	0,1069	89,72	+0,01
0,1308	0,1304	99,69	−0,02
0,1215	0,1211	99,67	−0,04
0,1180	0,1177	99,75	+0,04

$n = 8$; $M = 99{,}71$; $s = 0{,}03$; $s_m = 0{,}01$; $\alpha = 0{,}95$; $t_\alpha = 2{,}365$; $A = 99{,}71 \pm 0{,}024$

Tabelul V

Rezultatele obținute la dozarea doxiciclinei acido-bazică indirectă, folosind reacția de precipitare cu tetrafenilboratul de sodiu

g substanță luate în lucru	Găsit la dozare		Eroare față de M
	g	%	
0,1142	0,1139	99,74	+0,02
0,1086	0,1083	99,72	0,00
0,1274	0,1270	99,69	−0,03
0,1150	0,1147	99,74	+0,02
0,1206	0,1203	99,75	+0,03
0,1172	0,1169	99,74	+0,02
0,1136	0,1133	99,74	+0,02
0,1368	0,1364	99,71	−0,01

$n = 8$; $M = 99{,}72$; $s = 0{,}024$; $s_m = 0{,}01$; $\alpha = 0{,}95$; $t_\alpha = 2{,}365$; $A = 99{,}72 \pm 0{,}024$.

Determinări spectrofotometrice

Reacțiile de precipitare ale doxiciclinei am căutat să le folosim și la determinări spectrofotometrice, asociind astfel reacției de precipitare, care permite separarea antibioticului din diferite amestecuri, metoda absorbțiometrică.

Pentru aceasta s-au determinat la un spectrofotometru Spekord UV—VIS, cu înregistrate automată, dizolvat în apă.

În fig. 1 se prezintă spectrul în UV și vizibil al doxiciclinei, în care apar trei absorbanțe : una largă în regiunea 200 nm, foarte intensă, cu un număr la 215 nm, alta la 276 nm cu un număr la 256 nm și o a treia la 353 nm. Acestea sînt concordante cu cele din literatura de specialitate.

Cromoforul $>C = 0$ prezintă o bandă de absorbție (tranziția $\pi \rightarrow \pi^*$) de intensitate mare în regiunea 190—200 nm și o a doua bandă datorită tranziției $n \rightarrow \pi^*$, de intensitate mai mică în regiunea 270—290 nm (λ_{max} = 276 nm), bandă care este mai mult studiată datorită accesibilității sale tehnice.

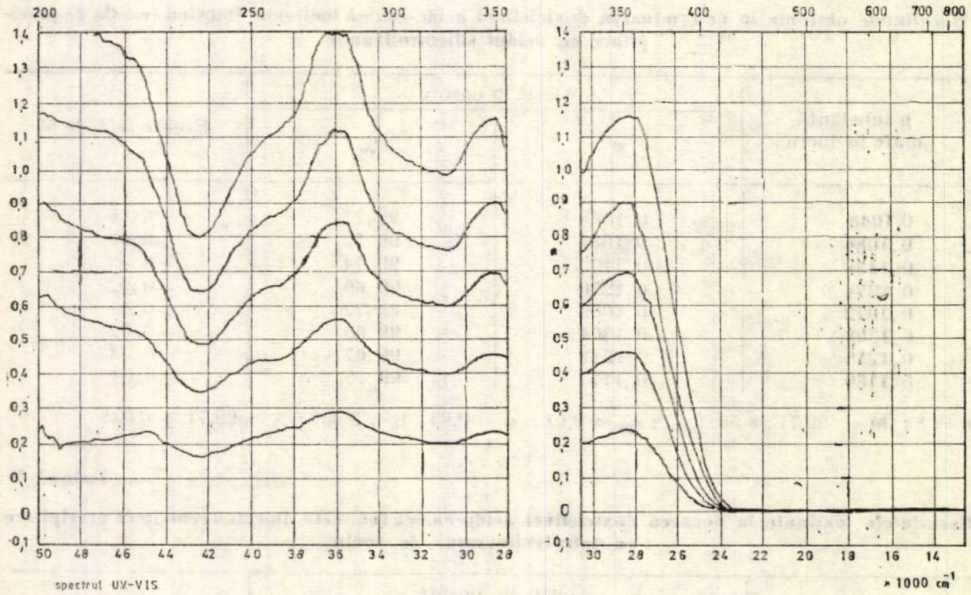


Fig. 1. — Spectrul în UV și val. vibramicinei.

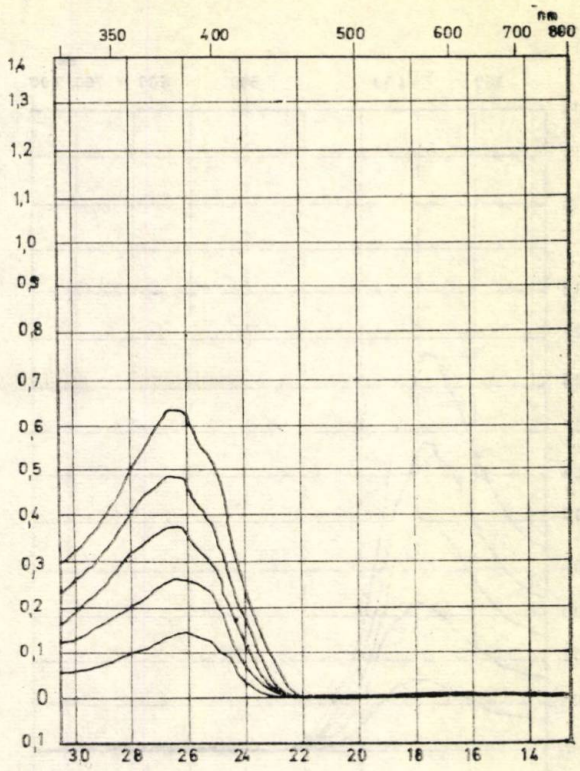
Gruparea $—CONH_2$, care este un cromofor mai slab, este caracterizată de asemenea prin două benzi, una în UV de vid (tranziția $\pi \rightarrow \pi^*$ care nu apare în spectrul determinat) și alta în regiunea 200 nm (tranziția $n \rightarrow \pi^*$).

Nucleul aromatic din molecula doxiciclinei este evidențiat prin benzile caracteristice : etilenică (E) la 180—220 nm și benzoidică (B) la 250—290 nm, datorate tranzițiilor $n \rightarrow n^*$, banda conjugată (K) datorată dublei legături la 250—290 nm și banda radicalică (R) la 275—330 nm, datorată substituenților cu atomi cu perechi de electroni liberi (tranziții $n \rightarrow \pi^*$), cu ușoare deplasări consecința substituenților care au funcții auxocrome (—OH, $—NR_2$).

S-au determinat spectrele precipitatelor de doxiciclină cu heteropoliacizii, dizolvate în DMF. Întrucît solventul absoarbe pînă la 270 nm, am ales numai absorbanța din regiunea 350—380 nm. Se constată că prin precipitare s-a produs un efect batocrom, aproximativ de aceeași intensitate pentru toți heteropoliacizii, maximum de absorbție fiind la 380 nm. În figurile 2—5 se prezintă spectrele UV ale precipitatelor de silicowolframat, fosfowolframat, silicomolibdat și fosfomolibdat de doxiciclină dizolvate în DMF, precum și variații absorbanțelor cu concentrația.

Folosind aceste date s-au instituit metode de dozare spectrofotometrică, care în principiu constau în : se precipită probe de doxiciclină cu heteropoliacidul ales, după tehnica descrisă la metoda gravimetrică, se separă precipitatul, se esorează, apoi se dizolvă în DMF într-un balon cotat, completîndu-se la semn cu solvent. Din această soluție se iau

Fig. 2. — Variația absorbanței silicowolframatului de doxiciclină cu λ și concentrația.



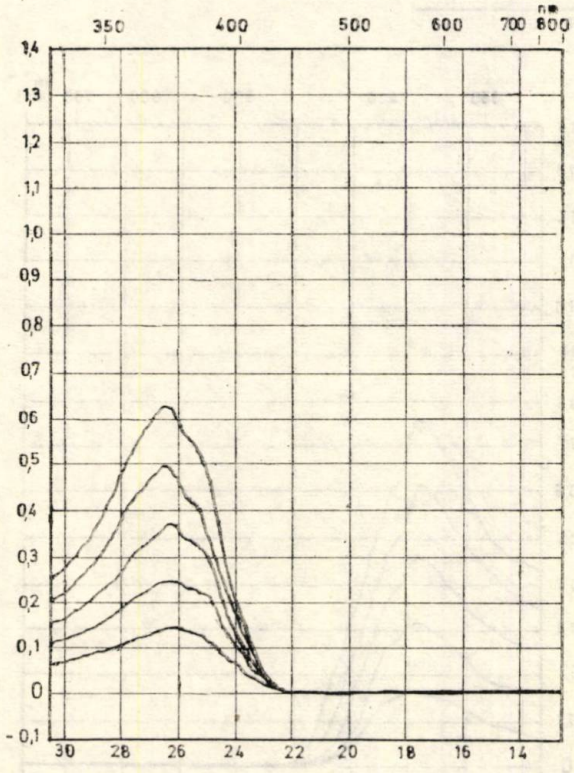


Fig. 3. — Variația absorbanței fosfowolframatului de doxiciclină cu λ și concentrația.

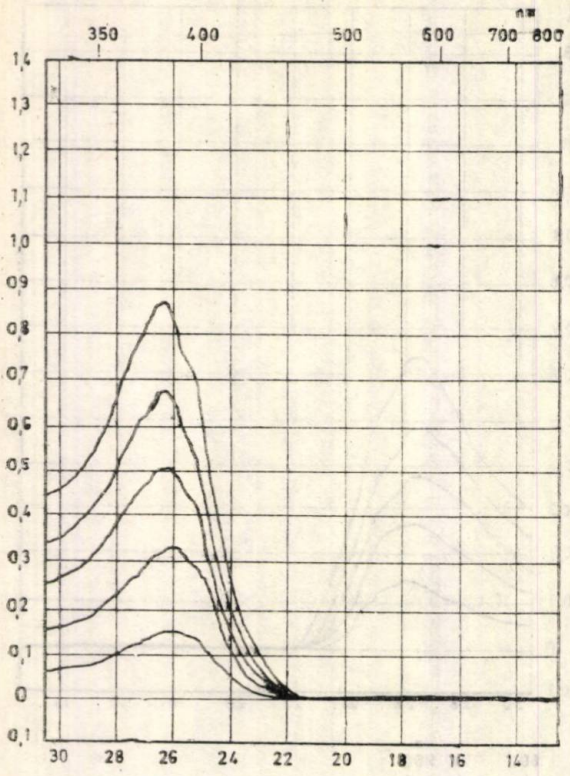


Fig. 4. — Variația absorbanței silicomolibdatului de doxiciclină cu λ și concentrația.

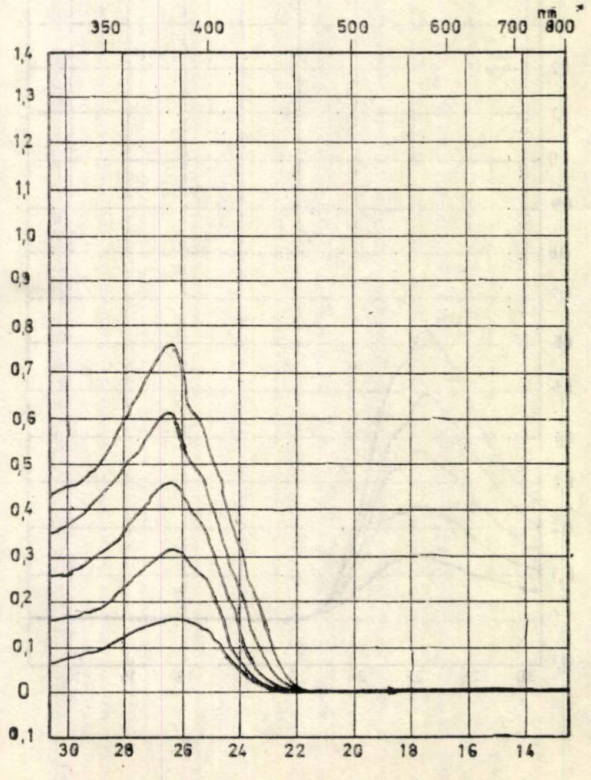


Fig. 5. — Variația absorbanței fosfomolibdatului de doxiciclină cu λ și concentrația.

probe de diulează cu DMF, după care se fac citirile la 380 nm, comparativ cu DMF, folosind cuve de 1 cm. Absorbtivitatea calculată pentru silicowolframatul de doxiciclină este :

$$a \begin{matrix} 1\% \\ 1\ cm \end{matrix} = 796$$

În tabelul VI se prezintă o parte din rezultate obținute la determinarea doxiciclinei.

Tabelul VI

Rezultatele obținute la determinarea spectrofotometrică a doxiciclinei sub formă de silicowolframat

mg substanță luate în lucru	Găsit la dozare		Eroare față de M
	mg	%	
0,001573	0,001570	99,81	−0,02
0,003929	0,003927	99,95	+0,12
0,002478	0,002473	99,80	−0,03
0,006343	0,006333	99,84	+0,01
0,004855	0,004850	99,90	+0,07
0,007922	0,007908	99,82	−0,01
0,009890	0,009865	99,75	−0,08
0,012416	0,012401	99,88	+0,05
0,011143	0,011123	99,82	−0,01
0,008423	0,008401	99,74	−0,09

$n = 10$; $M = 99{,}83$; $s = 0{,}065$; $s_m = 0{,}021$; $\alpha = 0{,}95$; $t_\alpha = 2{,}262$; $A = 99{,}83 \pm 0{,}05$

CONCLUZII

Folosind reacțiile de precipitare date de doxiciclină cu heteropoliacizii (acizii silicowolframic, fosfowolframic, silicomolibdenic, fosfomolibdenic) și tetrafenilboratul de sodiu, s-au elaborat metode de dozare gravimetrică.

S-au stabilit condițiile de dozare acido-bazică directe în soluții apoase și în dimetilformamidă, utilizînd ca reactiv acidul silicowolframic, iar ca indicator roșul de Congo. De asemenea, s-au stabilit și două metode de dozare acido-bazică indirecte, una folosind reacția de precipitare cu acid silicowolframic, determinînd funcția acidă în DMF cu o soluție de metoxid de sodiu, în prezența albastrului de timol și alta utilizînd reacția de precipitare cu tetrafenilborat de sodiu, dozînd funcția bazică cu acid percloric, în mediu de acid acetic, anhidru, în prezența tropeolinei 00.

S-a elaborat și o metodă spectrofotometrică, determinînd absorbanța silicowolframatului de doxiciclină dizolvat în DMF, la 380 nm.

Erorile de dozare sînt mici, cuprinse în limita metodelor de determinare respective, reacțiile de precipitare permițînd separarea doxiciclinei din diferite amestecuri în care nu sînt substanțe care precipită cu reactivii folosiți. Aceste metode pot fi aplicate la determinarea doxiciclinei din forme farmaceutice.

BIBLIOGRAFIE

1. MORAIT GH., ELICOPOULOS E. — *Farmacia* (Buc.), 1985, XXXIII, 4, 203.
2. ZYKA J. — *Pharmazie*, 1955, 10, 170.

3. GRAF E., FIEDLER E. — *Arch. Pharm.*, 1953, 286, 401.
4. BLAZEK J. — *Csl. Farm.*, 1956, 5, 210.
5. BLAZEK J., STEJSKAL E. — *Pharmazie*, 1957, 12, 409.
6. KRACMAR J., BLAZEK J., STEJSKAL E. — *Pharmazie*, 1957, 12, 803.

Articol intrat în redacție la 17.X.1986

Indicele de clasificare : 615.779.932 :545.822

SUMMARY

Gh. Morait, M. Morait, E. Eliopoulos — CONTRIBUTIONS TO THE DOSAGE OF DOXYCYCLINE (VIBRAMICIN). NOTE II. NEW METHODS OF CHEMICAL AND SPECTROPHOTOMETRIC DOSAGE

Precipitation reactions with heteropolyacids (silicowolframic, phosphowolframic, silicomolybdenic and phosphomolybdenic) were used, as well as reactions with sodium tetraphenylborate, for the introduction of new methods of gravimetric dosage of doxycycline. Conditions were established. for the direct acido-base dosage in aqueous and non-aqueous solutions with silicowolframic acid as titration agent and Congo Red as indicator, and two additional methods were also introduced, for indirect acido-base dosage, which determine the acid function of silicowolframate of doxycycline in a D.M.F. medium, with a solution of sodium methoxyde in the presence of thymol blue, or the basic function of the doxycycline tetraphenylborate in a medium containing anhydrous acetic acid and perchloric acid, in the presence of tropeoline 00 as indicator. A spectrophotometric method was also proposed, for the dosage of doxycycline, by which absorbance of doxycycline silicowolframate is determined at 380 nu., after solving in D.M.F.

РЕЗЮМЕ

Г. Морайт, М. Морайт, Е. Елиопулос — ВКЛАД В ВОПРОС О ДОЗИРОВКЕ ДОКСИЦИЛИНА (ВИБРАМИЦИНА). ЗАМЕТКА II. НОВЫЕ МЕТОДЫ ХИМИЧЕСКОЙ И СПЕКТРОГРАФИЧЕСКОЙ ДОЗИРОВКИ

Используясь реакции преципитации с помощью гетерополикислот (кремневольфрамовой, фосфовольфрамовой, кремнемолибденовой и фосфомолибденовой), а также и тетрафенилборат натрия, были выработаны новые методы гравиметрической дозировки доксициклина. Были установлены условия прямой кислотно-щелочной дозировки в водных и неводных растворах (*D.M.F.*), применяясь, в качестве титрирующего вещества, кремневольфрамовую кислоту в присутствии конгорота, а также и два метода непрямой кислотно-щелочной дозировки, путем определения кислотной функции кремновольфрамата доксициклина в среде *D.M.F.*, при помощи раствора мето-окиси натрия в присутствии тимоловой сини, или основная функция тетрафенил бората доксициклина в среде с безводной уксусной кислотой, при помощи раствора хлорной кислоты в присутствии тропеолина 00, в качестве индикатора.

Был выработан, также, и спектрофотометрический метод дозировки доксициклина, путем определения абсорбционной способности кремновольфрамата доксациклина, растворенного в *D.M.F.* , при 380 *nu*..

Contribuţii la studiul extractului de *Vaccinum myrtillus*. Nota I. Analiza fizico-chimică

Vasilica Antonescu, Sanda Iosif, Irina Predescu, C. Georgescu
Laboratorul de Chimie Fizică, Facultatea de Stomatologie şi Farmacie, I.M.F. Bucureşti

REZUMAT *Sînt prezentate rezultatele analizei cromatografice pe hîrtie şi în strat subţire ale determinărilor spectrale în U.V. vizibil şi I.R. efectuate asupra extractului de* Vaccinum myrtillus *(V.M.) S-a determinat conţinutul global în antociani exprimat în cianidol pe baza maximei de absorbţie de la 537 nm.*

Extractul fluid de V.M. a fost încorporat în baze lipofile şi hidrofile obţinîndu-se unguent şi gel pentru aplicaţii locale. De asemenea s-au efectuat determinări reologice cu viscozimetrul rotaţional Rheotest—A.

Plante medicinale
Afin
Extracte
Cromatografie

Pe baza acţiunii de factor P sau factor de permeabilitate (4) capilară a compuşilor flavonoidici sînt utilizate în terapeutică produsele „Difrarel" (lab. Chibert — Franţa) şi la noi „Difebiom" conţinînd antocionozide din *Vaccinum myrtillus* (V.M.) cu afecţiune trofică asupra capilarelor, mărind rezistenţa lor, folosit pentru tratamentul afecţiunilor vasculare retiniene, purpură, varice, sechele de flebită. De asemenea este folosit pentru ameliorarea vederii nocturne (2). Alte cercetări (2, 7) au demonstrat acţiunea cicatrizantă şi regeneratoare epitelială deosebit de puternică a extractului de afine ceea ce a dus la folosirea lui în formule galenice cu acţiune locală şi în cosmetică (6).

În lucrare sînt prezentate rezultatele cercetărilor referitoare la separarea şi determinarea cantitativă a componentelor din extractul de V.M. precum şi obţinerea unor preparate topice cu acţiune locală.

MATERIAL ŞI METODE

1. *Prepararea extractelor*

Au fost preparate următoarele tipuri de extracte de V.M. obţinute din fructe decongelate :

— extract obţinut prin presarea fructelor şi concentrarea prin distilare la vid. Extractul mai conţine oze, pectine, mucilagii, taninuri, ultimele două componente dînd extractului culoare brună ;

— extract fluid obținut după degresarea fructelor în aparatul Soxhlet cu dicloretan apoi extracția antocianilor cu metanol conținînd 1% HCl. Soluția extractivă a fost distilată la vid pînă la consistență moale ;

— extract hidrolizat obținut prin tratarea extractului fluid cu HCl 2 m și încălzirea pe baie de apă timp de 40 de minute ;

— total antocianic purificat obținut prin extracții repetate cu etanol, evaporare pînă aproape de sec și purificare cu acetat de plumb (7).

2. *Prepararea unguentului și a gelului*

Extractul fluid de V.M. a fost încorporat într-o bază unguent și un gel de carbopol în proporție de 1% folosind următoarele formule (3) :

Unguent

Extract de afine	0,5 g
Alcool cetilic	12,5 g
PEG 4 000	5 g
PEG 400	5 g
Tween	3 g
Nipagin	0,1 g
Sorbitol 70%	30 g
Hidrosulfit de sodiu	0,3 g
Trietanolamină	0,8 g
Acid lactic	2,5 g
Unguent emulgator	ad 50 g

Gel

Extract de afine	0,5 g
Sorbitol 70%	40 g
Propilenglicol	5,5 g
Alcool	0,1 g
Nipagin	0,3 g
Hidrosulfit de sodiu	0,3 g
Carbopol	2 g
Trietanolamină	1 g

Pentru a urmări potențarea acțiunii cicatrizante am obținut de asemenea extract fluid de *Hypericum perforatum* (sunătoare), *Callendula officinalis* (gălbenele), *Viola tricolor* (panseluțe), *Taraxacum officinale* (păpădie) pe care le-am asociat în diferite proporții și încorporat în formule.

Analiza cromatografică s-a efectuat pe hîrtie Whattman 1 și prin C.S.S. cu adsorbanții silicagel G, celuloză și amestec silicagel-celuloză. Au fost utilizate următoarele sisteme de solvenți :

1. Acid acetic — apă — acid clorhidric concentrat (30:10:3) (Forestal)
2. Butanol — acid acetic — apă (4:1:5)
3. Butanol — acid clorhidric 2 N (1:1)
4. Acid acetic 60% (3).
5. Butano-benzen-acid-formic-apă (100:19:10:25)
6. Alcool amilic-acid acetic-apă (5:3:2)
7. Butanol-acid-acetic-apă (4:2:1)

Pentru revelarea spoturilor am utilizat diferiți revelatori de culoare sau fluorescență, $AlCl_3$ 5% în etanol, Na_2CO_3 15%, $FeCl_3$ 0,5%, cloramină T 5% în soluție NaOH 0,5% acid sulfanilic diazotat.

Spectrele în UV, vizibil și IR au fost obținute cu aparatele Specord UV—VIS și Specord 71—IR.

Determinările reologice pentru controlul calitativ al unguentului și gelului s-au efectuat cu vîscozimetrul rotațional RHEOTEST A la 22°C prin metoda forfecării continue.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

La analiza cromatografică pe hîrtie a extractului fluid cele mai eficiente rezultate s-au obținut cu sistemul 5. În tabelul I sînt prezentate valorile Rf și colorațiile obținute cu sau fără revelator de culoare și fluorescență în sistemul 5. Au fost evidențiați 12 compuși dintre care 3 sînt derivați antocianici de culoare roșie, unul, Rf = 0,26 fiind în proporție minoritară. Cele trei spoturi sînt de culoare albastră în urma tratării cromatogramei cu $AlCl_3$ sau cloramină T 5% în soluție NaOH 0,5% (1) și de culoare portocalie după pulverizare cu acid sulfanilic diazotat.

Reacția de complexare cu ionul Al^{3+} evidențiază existența grupărilor o-difenol libere pe nucleul fenil lateral din structura derivaților antocianici. Reacția cu cloramină T în mediu alcalin, așa cum se menționează în literatură este pozitivă numai pentru derivații fenolici o- sau m- dihidroxilici și cei vicinal trihidroxilici. Compușii fenolici monohidroxilici sau cei hidroximetoxilați nu sînt localizați cu acest reactiv cromogenic. Mecanismul de reacție nu este complet elucidat dar se presupune că cloramina T oxidează în mediu alcalin compușii o-dihidroxilici la chinone, iar pe cei vicinal trihidroxilici la hidroxichinone.

Cele mai bune separări prin CSS au fost obținute în sistemul Forestal în care s-au evidențiat 3 spoturi colorate în roșu cu valori Rf = 0,65 ; 0,82 ; 0,92. În tabelul II sînt date valorile Rf ale spoturilor atribuite antocianilor din extractul fluid și din hidrolizat în diferite sisteme de solvenți.

Analiza spectrală în UV și vizibil s-a efectuat asupra extractului fluid și a celui proaspăt obținut prin presare cît și asupra eluatelor celor trei spoturi colorate în roșu obținute prin CSS pe silicagel G — celuloză a extractului proaspăt în sistemul Forestal. Maxima spectrală din vizibil a soluției etanolice a extractului fluid situată la 537 nm, datorată heterociclului central și conjugării sale cu inelul benzenic din structura antocianilor (fig. 1) prezintă o deplasare batocromă de 45 nm în urma reacției cu $AlCl_3$ (fig. 2). Aceeași maximă de la 537 nm este deplasată cu 20 nm în urma reacției cu acetat de sodiu. Se știe că acetatul de sodiu anhidru provoacă ionizarea grupelor — OH fenolice cu caracter acid mai pronunțat situate în poziția 7. Rezultă deci că derivații antocianici din extract posedă grupare — OH liberă în poziția 7.

În tabelul III sînt prezentate maximele spectrale în vizibil și UV ale eluatelor celor 3 spoturi atribuite derivaților antocianici.

Spectrele în IR obținute prin pastilare cu KBr au fost efectuate pentru extractul fluid și extractul hidrolizat. Au fost puse în evidență elementele principale din structura derivaților antocianici (fig. 3, 4) :

— caracterul aromatic al celor două cicluri benzenice prin benzile de la 2 910—1 610 cm^{-1} ;

— substituția pe nucleul benzenic prin benzile cuprinse între 1 225—950 cm^{-1} ;

Tabelul I

Valori RF ale extractului de V.M. în sistemul nr. 9 pe hîrtie Wathman 1

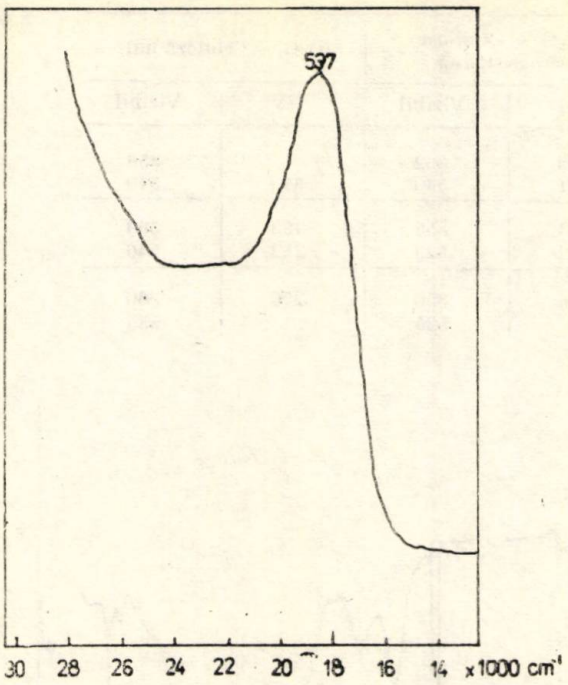
Valori Rf.	Coloraţie în vizibil	Fluorescenţă în UV	$AlCl_3$ 5% în etanol		Cloramină T 5% în NaOH 5%	Ac. sulfanilic diazotat	Na_2CO_3 5%
			coloraţie în vizibil	fluorescenţă în UV			
0,04	roşu	—	albastru	—	albastru	portocaliu	—
0,07	—	—	—	—	—	—	albastru
0,10	roşu	—	albastru	—	albastru	portocaliu	—
0,16	—	—	—	—	—	—	albastru
0,26	roşu	—	albastru	—	albastru	portocaliu	—
0,28	—	bleu	—	—	—	—	—
0,36	—	bleu	—	—	—	—	—
0,38	—	—	—	galben	—	—	—
0,43	—	—	—	—	—	—	brun
0,47	—	—	—	bleu	—	—	fluores.
0,56	—	—	—	—	—	—	bleu
0,71	—	—	—	bleu	—	—	—

Tabelul II

Valori Rf ale extractului de V.M. în diferite sisteme de developare

Sistem de solvenţi	Adsorbant	Valori Rf	
		Extract	Hidrolizat
Butanol — acid acetic — apă (4 : 2 :1)	SiO_2G	0,075 0,15 0,68	
Butanol — acid acetic — apă (4 : 1 : 5)	Celuloză expunere la vapori de HCl	0,40 0,60	0,41 0,91
Alcool amilic — acid acetic — apă (5 : 3 : 2)	SiO_2G	0,33 0,55	0,59
Acid acetic 60%	Celuloză	0,43 0,47 0,79	0,14 0,83
Acid acetic 60%	Celuloză expunere la vapori HCl	0,38 0,60 0,66	0,2 0,8

Fig. 1.


537
30 28 26 24 22 20 18 16 14 x1000 cm⁻¹

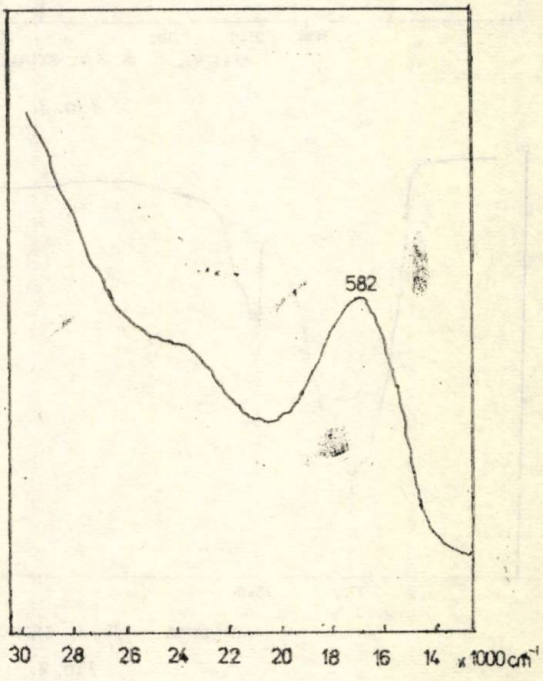
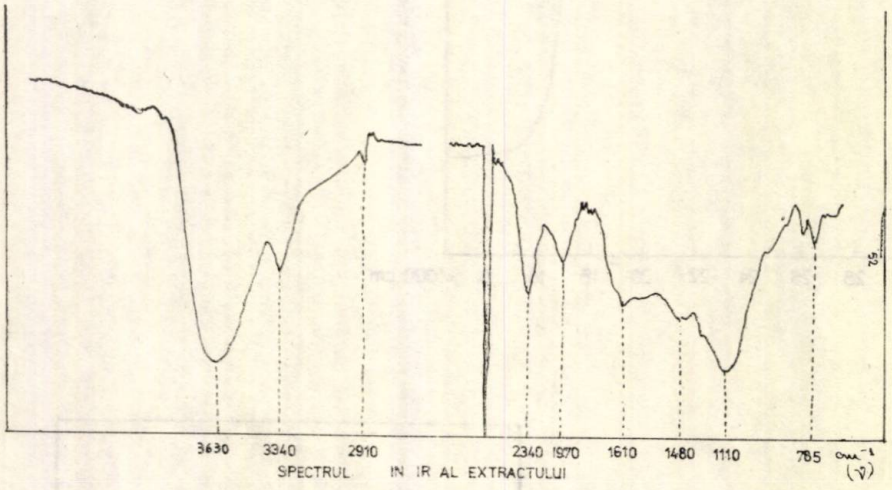

582
30 28 26 24 22 20 18 16 14 x1000 cm⁻¹

Fig. 2.

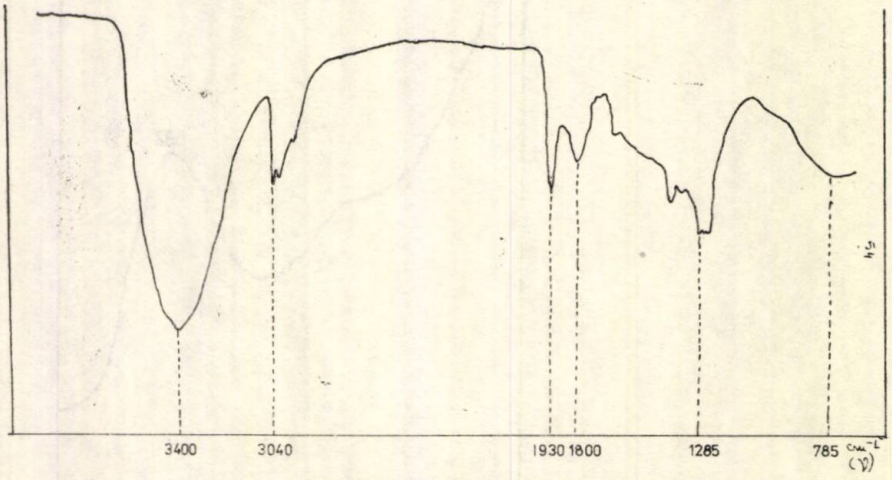
Tabelul III

	SiO_2G + Celuloză microcristalină		SiO_2G + Celuloză nativă	
	UV	Vizibil	UV	Vizibil
Spot I	270 311	362 540	 313	356 540
Spot II	273 312	358 523	253 282	360 540
Spot III	276	360 535	276	360 535



SPECTRUL IN IR AL EXTRACTULUI

Fig. 3.



SPECTRUL IN I.R AL EXTRACTULUI HIDROLIZAT

Fig. 4.

— heterocitul central prin benzile de la 1 610, 1 480 cm^{-1}.

Determinarea cantitativă a conținutului global în antociani exprimat în cianidol s-a efectuat pe baza maximei de absorbție din vizibil de la 582 nm în urma reacției de complexare cu $AlCl_3$ în etanol absolut. Curba de etalonare pentru reacția cianidolului cu $AlCl_3$ este prezentată în figura 5.

Legea Beer se verifică pentru domeniul de concentrații cuprins între 40 și 160 μg/ml, iar coeficientul procentual de absorbție este $a^{1\%}_{1cm} = 40,3$.

Au fost analizate extractele fluide și purificate. Calculul conținutului procentual în derivați antocianici exprimat în cianidol s-a efectuat după formula :

$$c\% = \frac{a \cdot d}{a^{1\%}_{1cm} \cdot m}$$

în care : a= absorbția la 582 nm

d = diluția

m = cantitatea de extract

$a^{1\%}_{1cm}$ — coeficientul procentual de absorbție

S-a lucrat la pH = 0,5 în metanol — apă 1:1 ce conține 1% acid clorhidric concentrat.

În urma determinărilor a rezultat că valoarea conținutului global în antociani a fost de 5,22% în extractul fluid obținut prin presare și de 95% în totalul antocianic purificat.

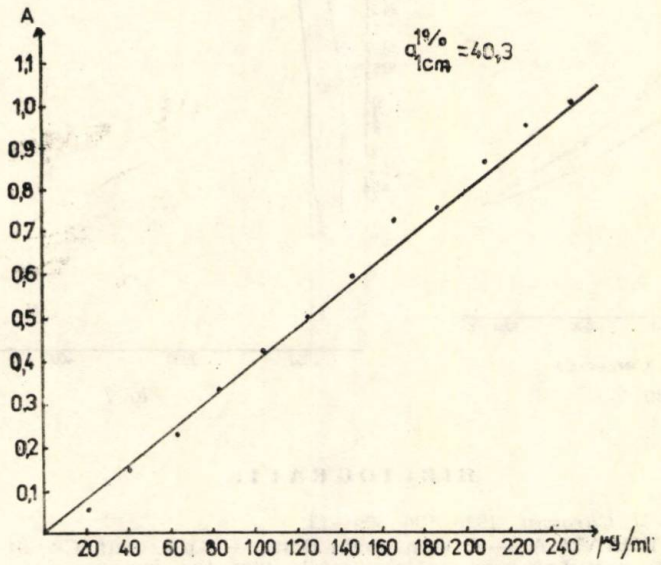


Fig. 5.

Reogramele unguentului pun în evidență o vîscozitate structurală (vîscozitatea depinde de tensiunea de forfecare) cu un tip de curgere plastic (fig. 6, 7). Reiese de asemenea caracterul tixotrop al substanței, adică scăderea vîscozității sub acțiunea temporară a forțelor de forfecare urmată de o creștere a vîscozității după încetarea acțiunii exteri-

oare. Literatura de specialitate (5) arată că natura ruperii și reformării structurii tixotrope diferă foarte mult la diferite tipuri de lanolină.

În cazul gelului curba de histereză este mai complicată, cu o deformare în curba ascendentă de tip „pinten" (fig. 8, 9). Este tipică pentru astfel de substanțe, dar, de la caz la caz, trebuie imaginat un model molecular adecvat, iar parametrii vîscoelastici trebuie determinați prin metoda curbelor de fulaj.

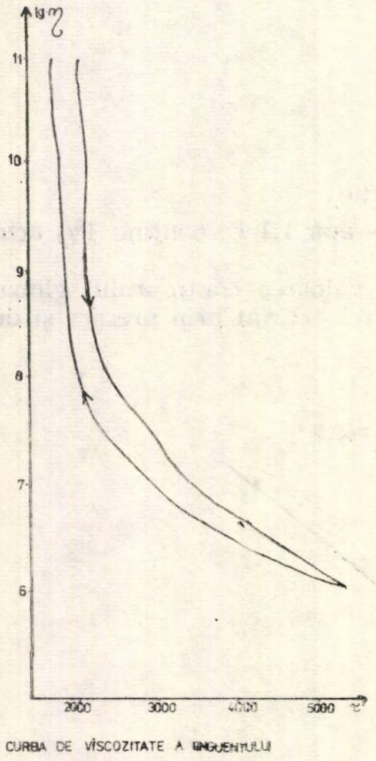


Fig. 6.

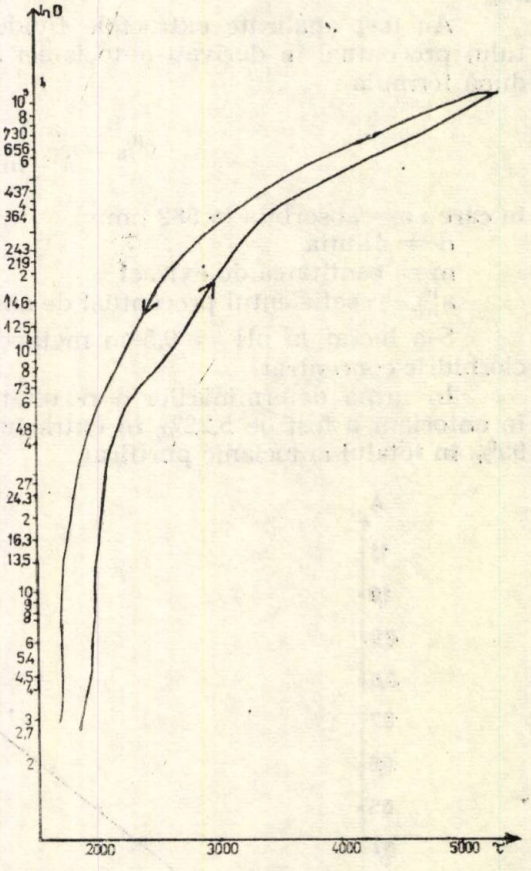


Fig. 7.

BIBLIOGRAFIE

1. BAJAJ K. — *J. Chromat.*, 1980, 196, 309—13.
2. CRIPPA F., BONATI A. — Inverni della Beffa — S.p.a. conf. CA, 94, 145, 335 p.
3. HENNING W. — *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1981, 173, 180—7.
4. MISKULIN M., TIXIER J. M. — *Pathophisiol. Pharmacoter. Cerebrovasc. Disord. Satell, Symp.* 2nd, 1980, 372—5, conf CA 96—15 089 s.
5. POPOVICI A. — Reologia formelor farmaceutice, Ed. Medicală, București, 1985.
6. PROSERPINO G. — *Riv. Ital. Essenze. Profumi, Piante off Aromi, Saponi, Cosmet. Aerosol*, 1977, 59 (12), 669—75, conf. CA 88—177 038 m.
7. VAN HAELEN J. — *J. Chromat.*, 1980, 187, 255, 60.

Articol intrat în redacție la 17.X.1986.

Indicele de clasificare : 615.772.35:545.844

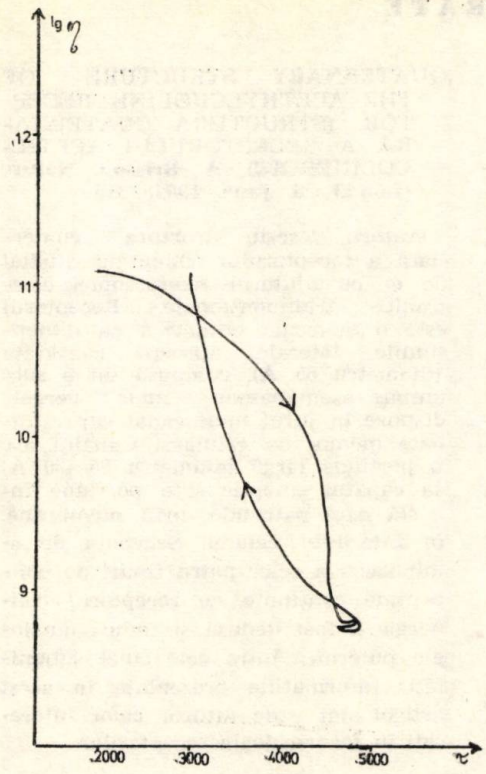


Fig. 8.

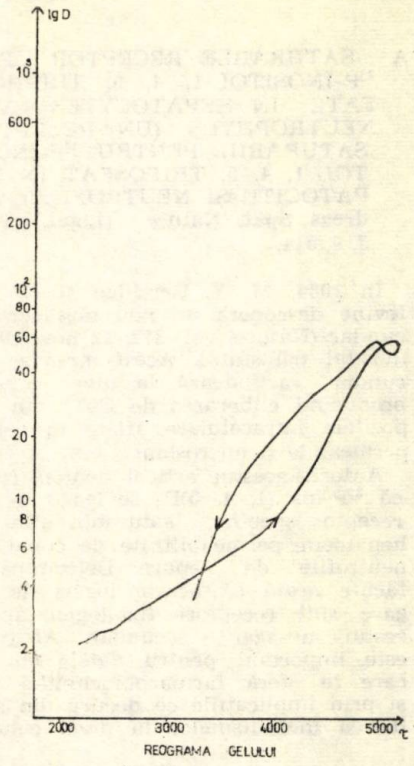


Fig. 9.

SUMMARY

Vasilica Antonescu, Sanda Iosif, Irina Predescu, C. Georgescu — CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF *Vaccinum myrtillus* EXTRACTS. NOTE I. PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS

The results are presented, or thin-layer and paper chromatographi studies, as well as of spectrophotometric investigations in the visible, ultraviolet and infra red ranges of *Vaccinum myrtillus* extracts. The global contents of antocyans was determined, under the form of cyanidol, the absorption peak being at 537 nu. The fluid extract of *Vaccinum myrtillis* was incorporated in lypophyllic and hydrophillic bases, and onguents and gels were obtained, to be used in local applications. Rheological and viscosimetric determinations were also carried out with the Rheotest-A rotational viscometer.

РЕЗЮМЕ

Василика Антонеску, Санда Иосиф, Ирина Предеску, К. Джорджеску — ВКЛАД В ИЗУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ *VACCINUM MYRTILLUS*. ЗАМЕТКА 1. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Сообщаются результаты спектрального хроматографического тонкослойного анализа на бумаге экстракта из *VACCINUM MYRTILLUS V.M.* Определялось общее содержание антоцианов, выраженное в виде цианидола, на основании максимальной абсорбции на уровне 537 nm.

Жидкий экстракт *V.M.* включался в липофильные и гидрофильные базы, приготовливаясь таким образом, мозь и гель для местного применения. Производились, также, и реологические определения с помощью ротационного вискозиметра *PEOTEST-A*.

REFERATE

A SATURABLE RECEPTOR FOR ^{32}P-INOSITOL-1, 4, 5, TRIPHOSFATE IN HEPATOCYTES AND NEUTROPHYLS. (UN RECEPTOR SATURABIL PENTRU ^{32}P-INOSITOL 1, 4, 5, TRIFOSFAT ÎN HEPATOCITE ŞI NEUTROFILE), **Andreas Spät,** Nature (Lond.). 1986, 3, 9, 514

În 1984, M. Y. Berridge şi R. F. Irvine descoperă un nou mesager secundar (Nature, vol. 312, 22 nov. 1984), inositol trifosfatul. Acest mesager secundar acţionează la nivel celular, producînd eliberarea de Ca^{2+} din depozitele intracelulare aflate în celule permeabile şi microsomi.

Autorii acestui articol demonstrează că ^{32}P-ins (1, 4, 5)P_3 se leagă de un receptor specific, saturabil, aflat pe hepatocite permeabilizate de cobai şi neutrofile de iepure. Determinările făcute arată că aceste locuri de legare sînt receptori fiziologici ai acestui mesager secundar. Articolul este important pentru datele noi pe care le oferă farmacobiochimiei cît şi prin implicaţiile ce decurg din studierea mecanismelor la nivel celular.

Gabriela Văduva

QUATERNARY STRUCTURE OF THE ACETHYLCHOLINE RECEPTOR. (STRUCTURA CUATERNARĂ A RECEPTORULUI ACETILCOLINERGIC), **A. Brisson,** Nature (Lond.), 6 june 1985, 315

Autorii descriu structura cuaternară a receptorului colinergic, studiat de ei cu ajutorul microscopiei electronice tridimensionale. Receptorul este o moleculă cilindrică cu dimensiunile laterale aproape constante (diametru 65 Å), compusă dn 5 subunităţi asemănătoare unor vergele dispuse în jurul unui canal care străbate membrana celulară. Canalul are o porţiune largă (diametru 25—30 Å) la capătul sinoptic şi o porţiune îngustă care pătrunde, prin membrană, în interiorul celulei. Secvenţa de aminoacizi a celor patru tipuri de polipeptide conţinute de receptorul colinergic a fost dedusă şi indică omologie puternică între cele cinci subunităţi. Informaţiile prezentate în acest articol sînt utile tuturor celor interesaţi în farmacologia receptorilor.

Gabriela Văduva

Determinarea spectrofotometrică a unui nou compus cu acţiune analgezică : tereftal-di (N-fenil)-piperazida

Veronica Nacea, Judith Fülöp

Laboratorul de Chimie Anorganică, Facultatea de Stomatologie şi Farmacie, Bucureşti

REZUMAT

În prezenta lucrare se descriu două noi metode de dozare a unui nou compus cu acţiune analgezică sintetizat în cadrul laboratorului de Chimie Organică şi testat farmacodinamic în cadrul laboratorului de Farmacodinamie, ale Facultăţii de Farmacie, Bucureşti.

Reactivitatea chimică a compusului a permis instituirea a două metode diferite de determinare corespunzătoare domeniilor de concentraţie : 0,04—0,16 mg/cm³ şi 0,002—0,016 mg/cm³.

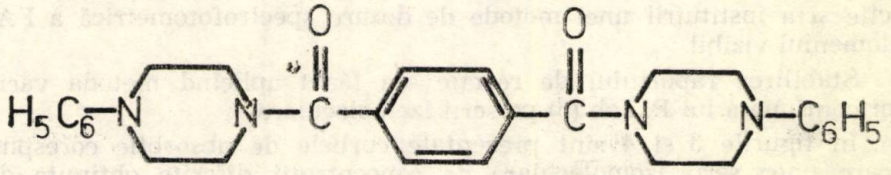
Metodele s-au dovedit exacte şi reproductibile, adecvate aplicării la determinarea cantitativă a substanţei.

Metoda de dozare în u.v. a fost aplicată şi la studierea farmacocineticii noului compus cu acţiune analgezică, în vederea introducerii lui în terapeutică.

Analgezice
Spectrofotometrie

Tereftal-di(N-fenil) piperazida (FAD) este un nou compus sintetizat în cadrul laboratorului de Chimie organică şi testat farmacodinamic de colectivul disciplinei de farmacodinamie al Facultăţii de Farmacie. Testele efectuate pe animale (şoareci, şobolani) au evidenţiat o acţiune analgezică comparabilă cu a morfinei (1, 2).

Introducerea în terapeutică a noului compus implică completarea fişei acestuia ; în prezenta lucrare am urmărit cercetarea reactivităţii chi-



Tereftal-di(N-fenil)-piperazida (FAD)

Fig. 1

mice a compusului cu scopul caracterizării lui și stabilirii unor metode de determinare cantitativă aplicabile *in vitro* și *in vivo*.

I. *Reactivitatea FAD față de ionii metalici*

Tereftal-di (N-fenil) piperazida, $C_{28}H_{30}N_4O_2$, M = 454,58 este o pulbere cristalină alb-gălbuie, cu miros caracteristic, cu p.t. 247—253°C, practic insolubilă în apă, eter, propilen-glicol, etilen-glicol, DMSO, DMF, greu solubilă în alcool etilic absolut la ușoară încălzire. Sub formă de clorhidrat este solubilă în DMF.

În molecula FAD fiind prezente două grupări analitice active, atomii de azot terțiari din cele două nuclee piperazinice și cele două grupări carbonil, am reușit solubilizarea FAD în DMF în prezența unor cantități stoochiometrice de acid clorhidric dil., pe seama protonării atomilor de azot terțiari adiacenți radicalilor $—C_6H_5$ (protonarea celorlalți doi atomi de azot terțiari nefiind posibilă datorită efectului —I atrăgător de electroni al grupărilor carbonil) (3).

Formarea clorhidratului FAD în DMF și menținerea lui în soluție am verificat-o determinînd conductivitatea electrică moleculară cu ajutorul unui conductometru O.K., 102 Radelkis, R.P.U. cu domeniul de măsurare 0,1 μS—0,5 S pe o soluție de FAD.2HCl 10^{-3} M în DMF. Valoarea conductivității molare a fost 141,5 μS (corectată în raport cu constanta aparatului K = 0,886 și conductivitatea DMF egală cu 1,82 μS). Ținînd cont de faptul că valorile conductivităților molare pentru electroliții de tipul 1:2, conc. 10^{-3}M în DMF sînt cuprinse între 135—175 μS, valoarea găsită practic de noi a confirmat formarea clorhidratului, electrolit de tipul 1:2 (4).

Soluția de FAD. 2HCl în DMF a reacționat cantitativ cu o soluție de $CuCl_2$ în DMF, iar amestecul obținut a prezentat absorbție maximă la 430 nm, caracteristică ionului ($CuCl_4^{-2}$) (5).

În figura 2 se observă că în prezența soluției de FAD. 2HCl în DMF, curba de absorbție a soluției de $CuCl_2$ în același solvent suferă un efect hipercrom cu apariția unui maxim bine definit la 430 nm. Poziția acestei benzi denotă că ea își are originea într-un transfer de sarcină de la ligand la metal (5).

Fiind verificate premisele teoretice ale formării unui complex colorat în galben între FAD.2HCl și $CuCl_2$, complex tip sare, prin asociere ionică, am continuat cercetările cu scopul stabilirii raportului de reacție și a instituirii unei metode de dozare spectrofotometrică a FAD în domeniul vizibil.

Stabilirea raportului de reacție s-a făcut aplicînd metoda variațiilor continue a lui P. Job (6) pe serii izomoleculare.

În figurile 3 și 4 sînt prezentate curbele de absorbție corespunzătoare unor serii izomoleculare de concentrații diferite obținute din soluții în DMF de FAD.2HCl și $CuCl_2$.

Din analiza curbelor reiese drept raport de reacție :

1 mol $CuCl_2$: 1 mol FAD.2HCl, valoarea maximă a absorbției citindu-se pentru fracția molară 0,500, în raport cu FAD.

Cea de a treia serie izomoleculară înregistrată pe soluții de $Cu(CH_3COO)_2$ și FAD.2HCl a reconfirmat ipoteza formării complexului

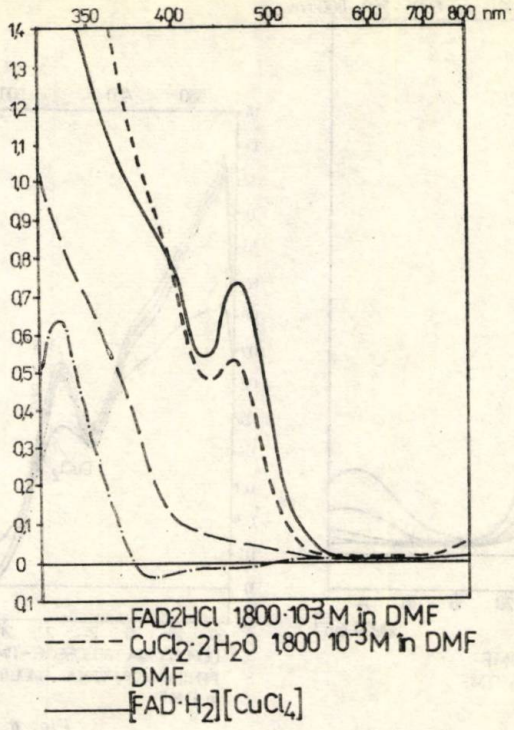


Fig. 2

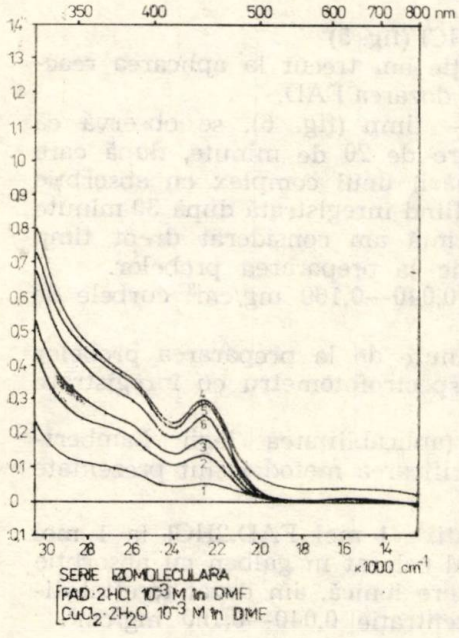


Fig. 3

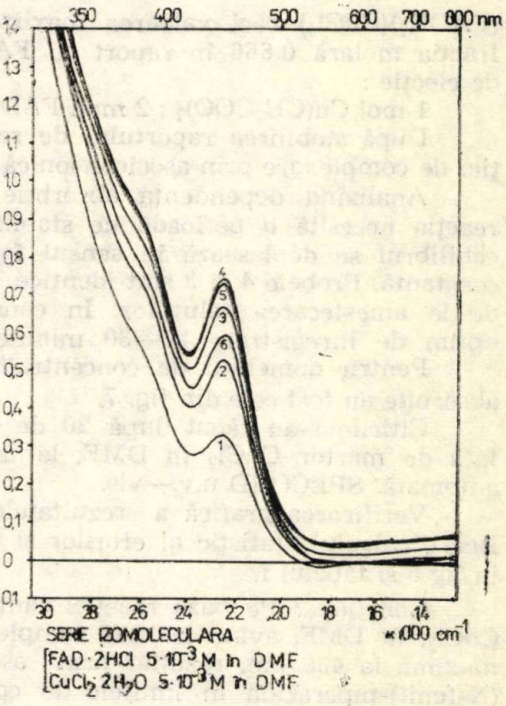


Fig. 4

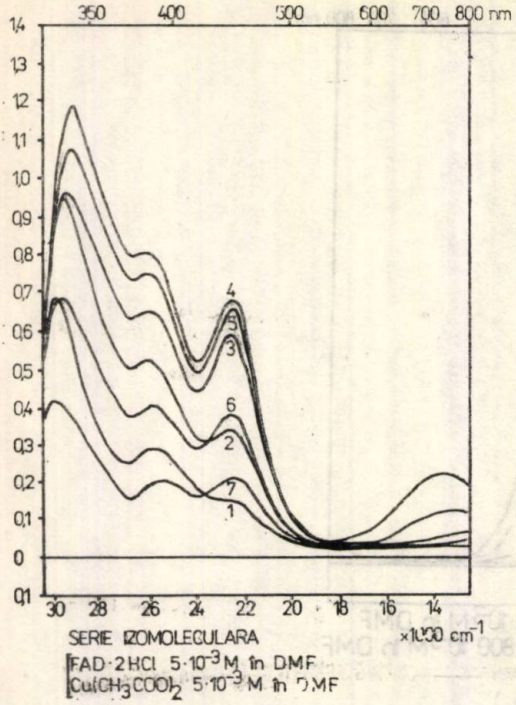


Fig. 5

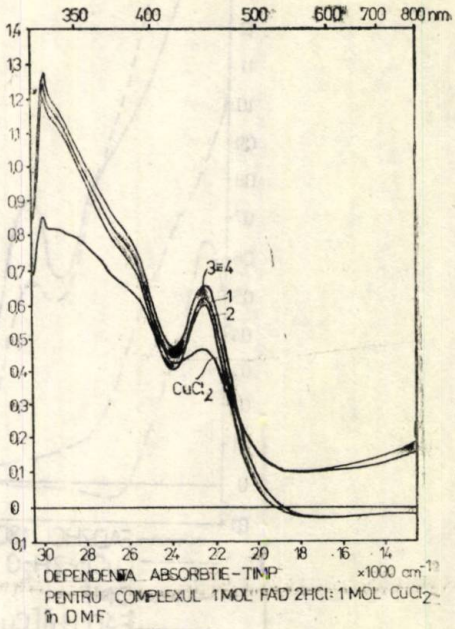


Fig. 6

$(FADH_2)(CuCl_4)$ căci valoarea maximă a absorbției s-a obținut pentru fracția molară 0,666 în raport cu FAD, adică corespunzător raportului de electie :

1 mol $Cu(CH_3COO)_2$: 2 moli FAD.2HCl (fig. 5)

După stabilirea raportului de reacție am trecut la aplicarea reacției de complexare prin asociere ionică la dozarea FAD.

Analizînd dependența absorbție — timp (fig. 6), se observă că reacția necesită o perioadă de stabilizare de 20 de minute, după care echilibrul se deplasează în sensul formării unui complex cu absorbție constantă. Probele 4 și 3 sînt identice, 4 fiind înregistrată după 30 minute de la amestecarea soluțiilor. În consecință am considerat drept timp optim de înregistrare 20—30 minute de la prepararea probelor.

Pentru domeniul de concentrație 0,040—0,160 mg/cm³ curbele de absorbție au fost cele din fig. 7.

Citirile s-au făcut după 20 de minute de la prepararea probelor față de martor $CuCl_2$ în DMF, la un spectrofotometru cu înregistrare automată, SPECORD u.v.—vis.

Verificarea grafică a rezultatelor (aplicabilitatea legii Lambert-Beer), calculul statistic al erorilor și verificarea metodei sînt prezentate în fig 8 și tabelul I.

Concluzii : Pe baza reacției cantitative 1 mol FAD.2HCl la 1 mol $CuCl_2$, în DMF, avînd la bază complexul colorat în galben cu absorbție maximă la 430 nm, rezultat prin asociere ionică, am dozat tereftal-di-(N-fenil)-piperazida în limitele de concentrație 0,040—0,160 mg/cm³.

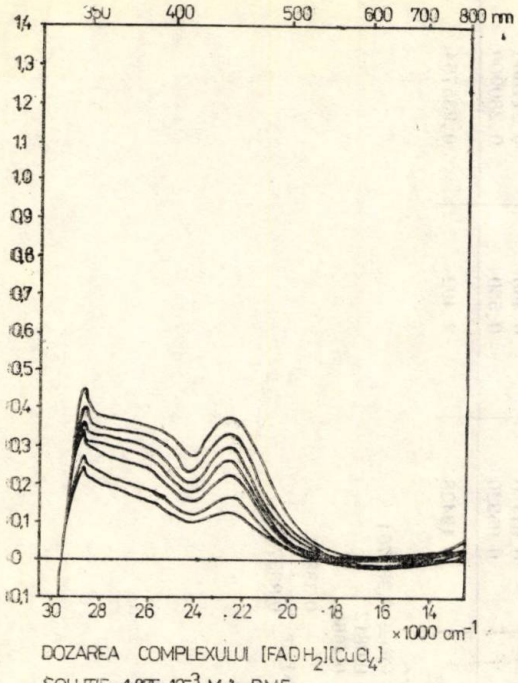


Fig. 7

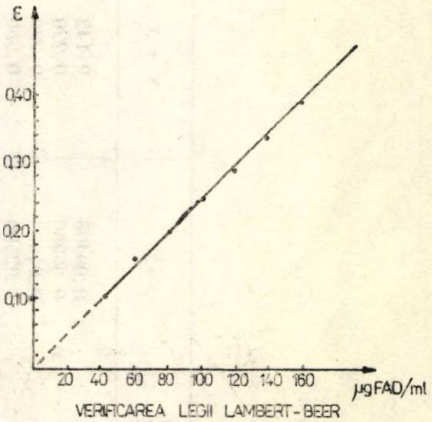


Fig. 8

II. *Studiul cantitativ al absorbției FAD în u.v.*

Încercînd să transpunem metoda la mediul biologic (sînge, ser), necesitatea protonării substanței prin adaos de HCl, a făcut dificilă aplicarea ei în acest scop.

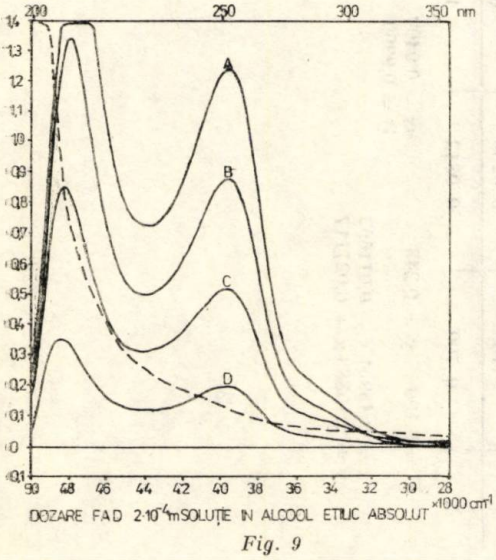


Fig. 9

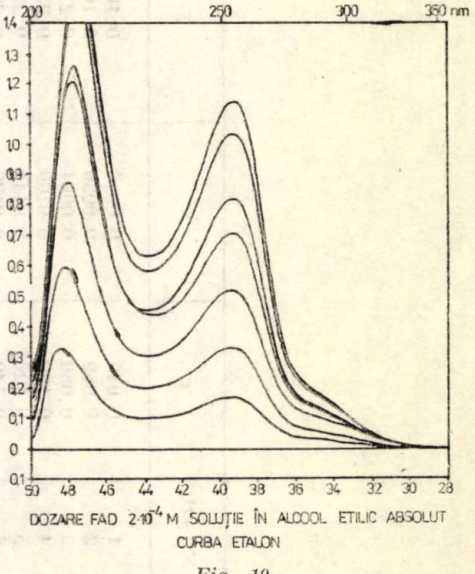


Fig. 10

Tabelul I

Nr. crt.	x	x^2	y	y^2	xy	x + y	$(x + y)^2$
1	0,040	0,0016	0,102	0,0104	0,00408	0,142	0,020164
2	0,060	0,0036	0,160	0,0256	0,00960	0,220	0,048400
3	0,080	0,0064	0,210	0,0441	0,01680	0,290	0,084100
4	0,100	0,0100	0,250	0,0625	0,02500	0,350	0,122500
5	0,120	0,0144	0,290	0,0841	0,03480	0,410	0,168100
6	0,140	0,0196	0,320	0,1024	0,04480	0,460	0,211600
7	0,160	0,0256	0,370	0,1369	0,05920	0,530	0,280900
Σ	0,700	0,0812	1,702	0,4660	0,19428	2,402	0,935764

$\bar{x} = 0{,}100 \quad \bar{y} = 0{,}243 \quad \sigma x = 0{,}0400 \quad \sigma y = 0{,}0867$ *Verificare*

$R = 0{,}9960 \quad \alpha = 0 \quad \Sigma(x + y)^2 = 0{,}935764$

$x = 0{,}45951\ y - 0{,}011662 \quad m_1 = 2{,}15883 \quad \Sigma x^2 = 0{,}0812$

$y = 2{,}15883\ x + 0{,}027117 \quad m_2 = 2{,}17620 \quad \Sigma y^2 = 0{,}4660$

$$\Sigma 2\,xy = \frac{0{,}38856}{0{,}93576}$$

În consecință am studiat absorbția tereftal-di(N-fenil)-piperazidei în domeniul u.v. folosind un solvent adecvat — alcool etilic, absolut (care nu absoarbe decît în u.v. de vid, trazițiile $\sigma - \sigma^*$ necesitînd energii mari, au loc la lungimi de undă mici) (fig. 9).

Se observă prezența a două maxime de absorbție : un maxim la 210 nm cu o absorbție puternică care indică o tranziție $\pi - \pi^*$ și este atribuită sistemului de duble legături conjugate din cei doi substituenți $-C_6H_5$; acest maxim suferă un efect batocrom datorită solventului. Al doilea maxim de absorbție la 245 nm și acesta destul de puternic l-am atribuit unei tranziții $n - \sigma^*$, datorate probabil grupărilor carbonil puternic influențate de nucleele piperazinice (7).

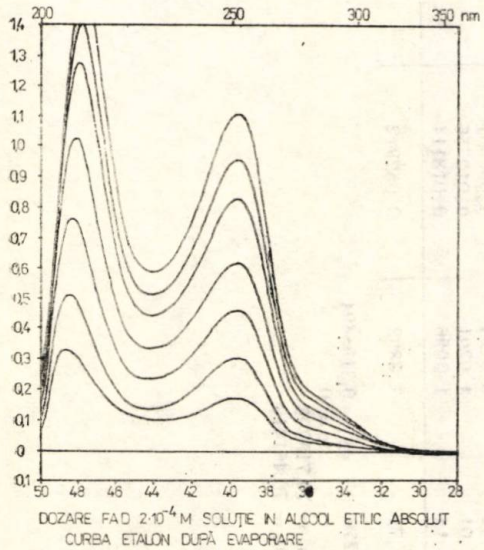


Fig. 11

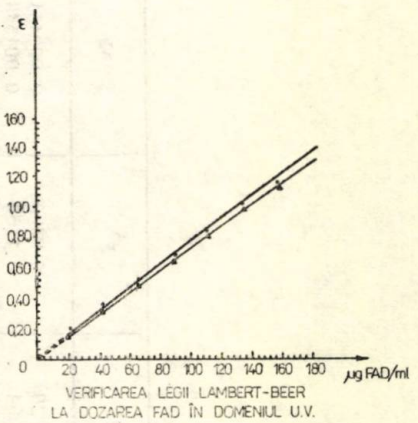


Fig. 12

Pentru soluțiile de FAD 2.10^{-4}M, pe domeniul de concentrație cuprins între 0,002—0,016 mg/cm^3 (fig. 10 și 11), am înregistrat extincții cuprinse între 0,20 și 1,14. În aceste condiții am stabilit metoda de dozare a FAD pe domeniul de concentrații sus amintit, adecvată transpunerii la mediul biologic.

Transpunerea la mediul biologic implicînd eliminarea solventului neapos, aceleași probe au fost înregistrate după evaporare și reluare cu același solvent în aceeași cantitate.

Reprezentarea grafică a rezultatelor în ambele cazuri reflectînd verificarea legii Lambert-Beer pe domeniul de concentrație studiat, este prezentată în fig. 12.

Calculul statistic al erorilor și verificarea metodei s-a făcut după indicațiile din literatură (8, 9) prin metoda regresiei și a celor mai mici pătrate, tabelele II și III.

Concluzii. Pe baza absorbției FAD în u.v. (soluție alcoolică) am stabilit o nouă metodă de determinare spectrofotometrică cantitativă în limitele de concentrație 0,002—0,016 mg/cm^3. Metoda a fost transpusă cu bune rezultate la studiul farmacocineticii FAD, în vederea introducerii compusului în terapeutică.

Tabelul II

Nr. crt.	x	x^2	y	y^2	xy	x + y	$(x + y)^2$
1	0,00227	0,00000515	0,20	0,0400	0,000454	0,20227	0,0409131
2	0,00454	0,00002061	0,34	0,1156	0,001543	0,34454	0,1187078
3	0,00681	0,00001452	0,51	0,2601	0,003473	0,51681	0,2670925
4	0,00908	0,00008240	0,69	0,4761	0,006265	0,69908	0,4887128
5	0,01135	0,00012880	0,82	0,6724	0,009307	0,83135	0,6911428
6	0,01362	0,00018550	1,01	1,0201	0,013756	1,02362	1,0477979
7	0,01589	0,00025200	1,14	1,2996	0,018114	1,15589	1,3360817
Σ	0,06356	0,00072129	4,71	3,8839	0,052912	4,77356	3,9904486

$\bar{x} = 0,00908$ $\bar{y} = 0,672857$ $\sigma x = 0,0045276$ $\sigma y = 0,3195404$

$R = 1,0017$ $\alpha = 0$

$x = 0,0141931\ y - 0,00046998$ $m_1 = 70,716208$

$y = 70,69609\ x + 0,03093650$ $m_2 = 70,461818$

Verificare

$\Sigma(x + y)^2 = 3,9904486$

$\Sigma x^2 = 0,00072129$

$\Sigma y^2 = 3,8839$

$\Sigma 2(xy) = 0,105824$

3,9904452

Tabelul III

Nr. crt.	x	x^2	y	y^2	xy	x + y	$(x + y)^2$
1	0,00227	0,00000515	0,18	0,0324	0,004086	0,18227	0,0332223
2	0,00454	0,00002061	0,30	0,0900	0,003620	0,30454	0,0927446
3	0,00681	0,00004637	0,46	0,2116	0,003132	0,46681	0,2179115
4	0,00908	0,00008244	0,62	0,3844	0,005629	0,62908	0,3957416
5	0,01135	0,00012882	0,80	0,6400	0,009080	0,81135	0,6582888
6	0,01362	0,00018550	0,96	0,9216	0,013075	0,97362	0,9479359
7	0,01589	0,00025240	1,10	1,2100	0,017479	1,11589	1,2452105
Σ	0,06356	0,00072129	4,42	3,4900	0,0501670	4,48356	3,5910552

$\bar{x} = 0,00908$ $\bar{y} = 0,631428$ $\sigma x = 0,00452769$ $\sigma y = 0,3160223$

$R = 1,0017$ $\alpha = 0$

$x = 0,0143511\ y + 0,00001226$ $m_1 = 69,917735$

$y = 69,917735\ x - 0,003425$ $m_2 = 69,68062$

Verificare

$\Sigma(x + y)^2 = 3,5910552$

$\Sigma x^2 = 0,00072129$

$\Sigma y^2 = 3,4900$

$\Sigma 2(xy) = 0,1003340$

$3,59105529$

BIBLIOGRAFIE

1. DOBRESCU D. — Farmacoterapia, Ed. Medicală, Bucureşti, 1981, 520.
2. ZOTTA V. — Chimie farmaceutică, Ed. Medicală, Bucureşti, 1985, 349, 383.
3. IOVU M. — Chimie organică, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1982, p. 40.
4. GEORGLOWD S. — *Chem. Rev.*, 1971, 7, 81.
5. LEVER A. B. — *Inorg. Electron. Spectroscopy*, 1968, 297.
6. JOB P. — *Ann. Chem. Rev.*, 1928, 9, 113.
7. IOVU M. — *Chimie organică, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti*, 1982, p. 46.
8. BATUNER L. M., POZIN M. E. — Metode matematice în tehnică, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1956, p. 486.
9. STEINBACH M. — Prelucrarea statistică în medicină şi biologie, Ed. Academiei R.P.R., 1961, p. 233.

Articol intrat în redacţie la 24.IX.1986.

Indicele de clasaficare : 615.783.12—015:545.822

SUMMARY

Veronica Nacea, Judith Fülöp — THE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF A NEW COMPOUND WITH ANALGETIC EFFECTS : TEREPH TAL-DI-(N-PHENYL)-PIPERAZIDE

Two new methods are described, for the dosage of a new compound with analgetic effects synthetized in the Laboratory for Organic Chemistry and undergoing pharmacodynamic testing in the Laboratory for Pharmacodynamic Studies of the School of Pharmacy from Bucharest. The chemical reactivity of the compound has allowed to implement two different methods for the determination in two concentration ranges : 0.04—0.16 mg/sq.cm, and 0.002—0.016 mg/sq.cm. The methods are exact and reproductible, adapted to the quantitative determination of the substance. The UV method was also applied for the parmacokinetic study of the new compound, with a view of its use as a therapeutic analgetic.

РЕЗЮМЕ

Вероника Нача, Юдит Фюлёп — СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ, ОБЛАДАЮЩЕГО АНАЛЬГЕТИЧЕСКИМ СВОЙСТВОМ: ТЕРЕФТАЛ-ДИ (Н-ФЕНИЛ)-ПИПЕРАЗИДА

В данной работе описываются два новых метода дозировки нового соединения, обладающего анальгетическим действием, синтез которого был выработан в Лаборатории органической химии и был подвергнут фармакодинамическим испытаниям в фармакодинамической Лаборатории фармацевтического факультета Бухареста.

Химическая реактивность этого препарата позволила выработать два различных метода определения, в соответствии со сферой концентрации, а именно: 0,04—0,16 мг/См^3 и 0,002—0,016 мг/см^3.

Эти модели оказались точными и воспроизводимыми, т.е. приемлимыми для применения при количественном анализе вещества.

Метод дозировки в ультрафиолетовом изучении применялся также и при изучении фармакокинетики нового соединения с анальгетическим действием, в целях его введения в область терапии.

Noi tioamide N-substituite

Ioana Șaramet și Elena Bădău

Laboratorul de Chimie Organică, Facultatea de Stomatologie și Farmacie, București

REZUMAT *Folosind reacția amidelor, acizilor difenilsulfon-carboxilici cu pentasulfura de fosfor în mediu de dioxan anhidru s-au obținut noi compuși tioamidici N-substituiți.*

Amidele utilizate au fost obținute prin reacția clorurilor acizilor difenilsulfon-carboxilici cu amine primare.

Structura moleculară a noilor compuși a fost confirmată prin analiză spectrală în I.R., U.V. și ^{1}H-R.M.N.

p-Fenilsufonil-N-alchil(aril)-benzamidă.
p-Fenilsufonil-N-alchil(aril)-tiobenzamidă.
I.R.
U.V.
^{1}H-R.M.N.

Tuberculostatic
Tioamide

Într-o lucrare anterioară (1) am constatat că reunirea a două grupe farmacofore, grupa sulfonică și grupa tioamidică în aceeași moleculă are ca efect o creștere a activității tuberculostatice ; astfel, tioamidele primare sintetizate anterior și testate față de *Myobacterium tuberculosis* varietatea H_{37} au o activitate tuberculostatică net superioară etionamidei.

În continuarea acestor cercetări am realizat sinteza unor 4-arilsulfoniltiobenzamide N-substituite, de formulă generală din fig. 1, în scopul de a fi testate din punct de vedere al activității lor tuberculostatice.

Noile tioamide au fost obținute din reacția amidelor acizilor difenilsulfon-carboxilici cu pentasulfura de fosfor în mediu de dioxan an-

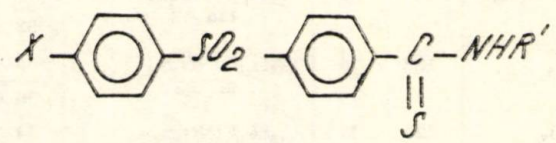


Fig. 1

unde X = H, Cl, Br,
iar R = n-C_4H_9, n-C_3H_7, —C_6H_5, —CH_2—C_6H_5,

hidru ; amidele folosite au fost obținute la rîndul lor prin reacția clorurilor acizilor difenil-sulfon-carboxilici (2) cu amine primare (fig. 2).

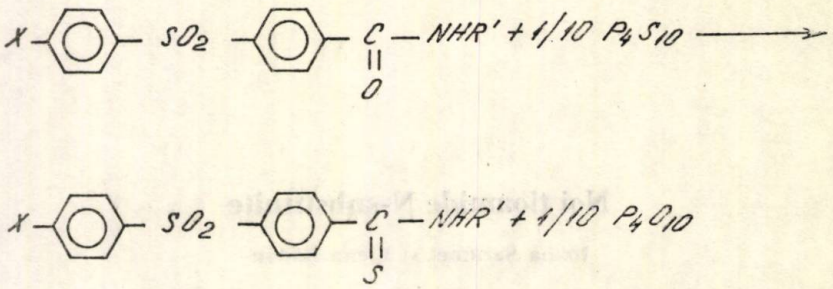


Fig. 2

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În tabelul I sînt prezentate noile tioamide, formulele lor moleculare, randamentele, temperaturile de topire și rezultatele analizei elementare cantitative.

Tabelul I

Nr. compus	X R'	T.t. °C	Rdt. %	Formula moleculară M	C % calc. / găsit	H % calc. / găsit	N % calc. / găsit
1.	H n−C_4H_9	129	78	$C_{17}H_{19}NO_2S_2$ 333,45	61,23 / 60,90	5,74 / 5,46	4,20 / 4,12
2.	H n−C_3H_7	136	78	$C_{16}H_{17}NO_2S_2$ 319,44	60,15 / 60,04	5,35 / 5,16	4,38 / 4,30
3.	H −C_6H_5	206	67	$C_{19}H_{15}NO_2S_2$ 353,45	64,56 / 64,14	4,28 / 4,32	3,96 / 3,94
4.	H −CH_2−C_6H_5	161	86	$C_{20}H_{17}NO_2S_2$ 367,48	65,36 / 64,91	4,66 / 4,70	3,81 / 3,90
5.	Br n−C_4H_9	105	67	$C_{17}H_{18}BrNO_2S_2$ 412,38	49,51 / 49,24	4,40 / 4,34	3,40 / 3,36
6.	Br −C_6H_5	218	82	$C_{19}H_{14}BrNO_2S_2$ 432,36	52,78 / 52,46	3,26 / 3,02	3,23 / 3,20
7.	Br −CH_2−C_6H_5	157	62	$C_{20}H_{16}BrNO_2S_2$ 446,38	53,81 / 53,18	3,61 / 3,40	3,14 / 3,02
8.	Cl n−C_4H_9	138	76	$C_{17}H_{18}ClNO_2S_2$ 367,92	55,49 / 56,01	4,93 / 4,80	3,81 / 3,70
9.	Cl n−C_3H_7	125	71	$C_{16}H_{16}ClNO_2S_2$ 353,88	54,30 / 54,50	4,56 / 4,36	3,96 / 3,90
10.	Cl −C_6H_5	201	88	$C_{19}H_{14}ClNO_2S_2$ 387,50	58,83 / 58,62	3,64 / 3,24	3,61 / 3,55
11.	Cl −CH_2−C_6H_5	167	91	$C_{20}H_{16}ClNO_2S_2$ 401,92	59,76 / 59,42	4,01 / 4,12	3,48 / 3,44

Tioamidele, ca și amidele de la care au provenit, sînt compuși solizi cu puncte de topire mai scăzute decît ale amidelor, de culoare galbenă, solubile în acetonă și cloroform.

Structura moleculară a noilor tioamide, dedusă din ecuațiile chimice de sinteză a fost dovedită prin analiza spectrală în IR, UV și de ^{1}H-RMN.

Spectrele de rotație-vibrație

În spectrele în IR, ale tioamidelor sintetizate efectuate în pastilă de KBr și la un aparat Specord IR-75 Carl Zeiss Jena au fost identificate benzile caracteristice principalelor elemente structurale ale moleculei.

Grupa tioamidică este caracterizată de prezența unei benzi intense la 3 290—3 360 cm^{-1}, atribuită vibrației de valență ν N—H. În spectrul 4-(4'-clorfenilsulfonil)-N-benziltiobenzamidei (fig. 3) această bandă se află la 3 295 cm^{-1}.

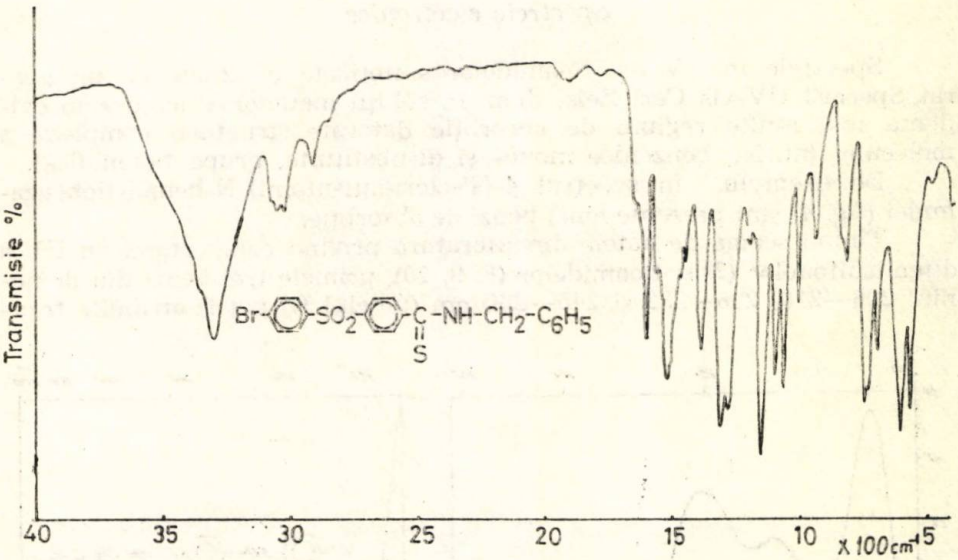


Fig. 3 — Spectrul IR al 4-(4'-bromfenilsulfonil)-N-benzil-tiobenzamidei. KBr.

Deplasarea absorbției spre lungimi de undă mai mici este explicată de posibilitățile cunoscute de asociere ale ticamidelor prin legături de hidrogen, de tipul dimer, polimer sau dimer dipol-dipol (3, 4).

Existența unei singure benzi de absorbție foarte intensă, datorată vibrației $\nu_{n-H'}$, ne permite să considerăm că tioamidele sintetizate se găsesc predominant sub forma unuia dintre izomerii geometrici posibili (5).

Tioamidele secundare mai sînt caracterizate de existența unei benzi atribuite vibrației de valență ν_{C-N-}, cuplată cu vibrația de deformație δ_{N-H}, care în spectrul noilor tioamide se află la 1 515 cm^{-1}, conform datelor din literatură (6).

Banda tioamidică indicată de literatură ca fiind situată în domeniul 1 300—1 400 cm^{-1} nu a putut fi identificată cu exactitate, în acest

domeniu situîndu-se benzile de absorbție produse de alte grupe de atomi din moleculă. Astfel, banda de la 1 310 cm^{-1} a fost atribuită vibrației de valență antisimetrică a grupei SO_2, banda corespunzătoare vibrației de valență simetrică a acestei grupe situîndu-se la 1 160 cm^{-1}.

În domeniul 1 480—1 580 cm^{-1}, apar benzile de absorbție datorate vibrației de valență ν C···C. În spectru sînt prezente și benzile de absorbție datorate vibrației ν C—H din nucleele aromatice în domeniul 3 100—3 000 cm^{-1}.

La 2 925 cm^{-1} este prezentă banda de absorbție datorată vibrației de valență antisimetrică a grupei CH_2, iar la 2 860 cm^{-1}, banda de absorbție datorată vibrației de valență simetrică a aceleiași grupe.

Spectrele în IR aduc dovada transformării cantitative a amidelor în tioamide în urma reacției cu pentasulfura de fosfor, întrucît din spectrele tioamidelor lipsesc benzile de absorbție de la 1 635—1 680 cm^{-1}, caracteristice vibrației de valență C=O.

Spectrele electronice

Spectrele în UV ale tioamidelor sintetizate efectuate cu un aparat Specord UV-vis Carl Zeiss Jena în soluții metanolice au pus în evidență mai multe regiuni de absorbție datorate structurii complexe a moleculei (nuclee benzenice mono- și disubstituite, grupa tioamidică).

De exemplu, în spectrul 4-(4'-clorfenilsufonil)-N-benzil-tiobenzamidei (fig. 4) sînt prezente cinci benzi de absorbție.

Ținînd seama de datele din literatură privind comportarea în UV a difenilsulfonelor (7) și tioamidelor (8, 9, 10), primele trei benzi din domeniul 206—210, 228—232 și 245—260 nm (tabelul II) pot fi atribuite tran-

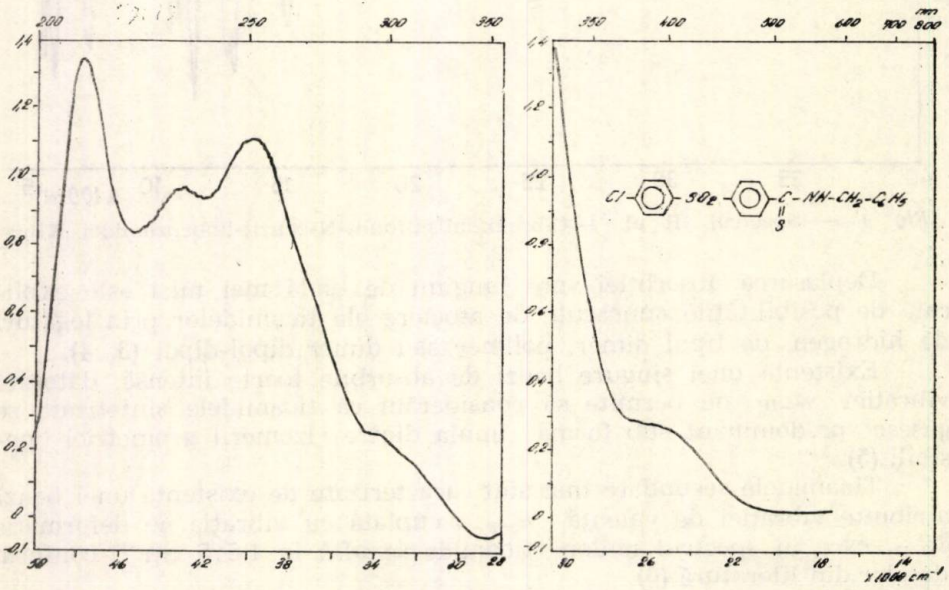


Fig. 4 — Spectrul U.V. în metanol absolut al 4-(4'-clorfenil-sulfonil)-N-benziltiobenzamidei.

zițiilor de tip $\pi-\pi^*$ ale electronilor din sistemul cromofor complex ce include cele două inele aromatice, grupa SO_2 centrală și substituenții din poziția 4.

Tabelul II

Benzile de absorbție în UV ale tioamidelor 1—11

Nr. compus	MeOH λ max$_{nm}$ (ε)				
1	210(10800)	—	245(10400)	298(2400)	395(480)
2	210(14200)	—	248(15600)	300(4400)	395(560)
3	210(23200)	228(14800)	260(18800)	325(5600)	435(480)
4	212(20800)	—	248(16000)	297(4000)	395(520)
5	208(24800)	232(13600)	254(18400)	295(2400)	435(340)
6	208(24800)	232(16200)	254(19200)	—	395(320)
7	207(20800)	232(16000)	252(22000)	295(3400)	395(480)
8	206(19400)	232(16200)	248(19200)	296(3200)	390(440)
9	206(19200)	228(16600)	248(23200)	295(3600)	395(440)
10	208(25400)	232(23200)	252(22000)	—	435(520)
11	208(19200)	232(13600)	252(16000)	297(3600)	395(520)

Benzile de absorbție de la 295—325 nm din spectrele tioamidelor, absente în spectrele amidelor de la care au provenit pot fi atribuite tranzițiilor de tip $\pi-\pi^*$ din cromoforul C=S tioamidic, iar banda de absorbție de la 395 nm se datorește tranzițiilor de tip $n-\pi^*$ din același cromofor.

Deplasarea batocromă a absorbțiilor datorate tranzițiilor din cromoforul C=S se poate explica prin existența în moleculă a grupei difenilsulfonil în care are loc conjugarea extinsă cu participarea orbitalilor 3d ai sulfului, care face ca nivelul energetic al orbitalului π^* să scadă, tranzițiile avînd loc la energii mai joase (fig. 5).

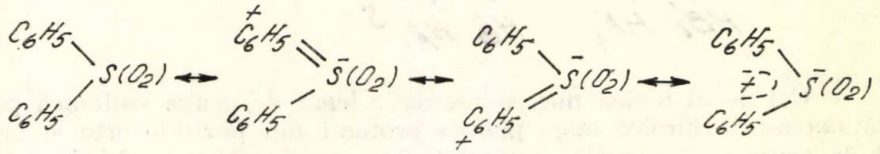


Fig. 5

Spectrele de ^{1}H-RMN

Din studiul spectrelor ^{1}H-RMN ale seriei de compuși tioamidici sintetizați se desprind unele elemente caracteristice (tabelul III).

— Diferență de plasare chimică datorită solventului. Astfel, valorile deplasărilor chimice observate în deutero-cloroform sînt sensibil mai mici decît cele observate în acetonă, probabil datorită unor asocieri specifice între solvent și substanță.

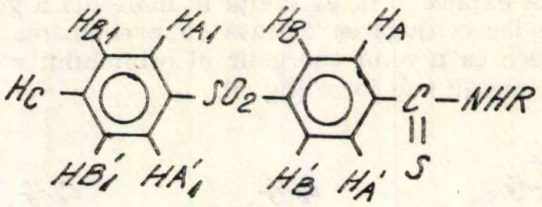
— Protonii nucleului p-fenilenic substituit cu gruparea tioamidică și gruparea sulfonică apar în spectrele ^{1}H-RMN sub forma unui singlet caractereistic la δ = 7,9—8,02 ppm, atunci cînd se folosește acetonă deuterată ca solvent. Aceasta demonstrează că efectele electro-

nice și de anizotropie ale grupării tioamidice și ale grupării sulfonice sînt similare. Valoarea deplasării chimice a protonilor aromatici a acestui nucleu reflectă prezența unor efecte de dezecranare puternice și caracteristice care permit să se recunoască acest tip de substituire după deplasarea chimică.

Tabelul III

Deplasări chimice ale protonilor din tioamidele 1—11

Nr. compus	HA HA'	HB_1 HB'	HA_1 HA'_1	HB'_1 HB_1 HC	$-NHCH_2$	$-(CH_2)_n$	$-CH_3-CH_2$ $C_6H_5-NHC_6H_5$			Solvent
1.	8,00	8,00	8,10	7,70	3,85	1,1—1,8	0,97	—	—	$(CD_3)_2CO$
2.	7,70	7,70	7,2—8	7,2—8	3,67	1,67	0,93			$CDCl_3$
3.	8,02	8,02	8,02	7,67	—	—	—	—	7,2—7,7	$(CD_3)_2CO$
4.	7,9	7,9	7,9	7,53	4,96	—	—	7,28	—	$(CD_3)_2CO$
5.	7,75	7,75	7,75	7,5	4,92	—	—	7,33		$CDCL_3$
6.	7,63	7,62	7,60	7,60	3,76	1,5—1,8	0,93	—	—	$CDCL_3$
7.	7,93	7,93	7,8	7,98	—	—	—		7,27	$(CD_3)_2CO$
8.	7,83	7,83	7,81	7,46	3,33	1,1—1,8	0,93	—	—	$CDCl_2$
9.	7,95	7,95	7,96	7,64	3,75	1,73	0,97	—	—	$(CD_3)_2CO$
10.	8,00	8,00	8,01	7,61	—	—	—	—	7,20 7,70	$(CD_3)_2CO$
11.	8,01	8,01	8,03	7,66	5,07	—	—	—	7,37	$(CD_3)_2CO$



— Cel de al doilea nucleu aromatic legat de grupa sulfonică prezintă deplasări chimice mari pentru protonii din pozițiile orto și orto' față de gruparea sulfonică, semnalele lor suprapunîndu-se în domeniul 7,9—8,05 ppm cu singletul primei grupări parafenilenice.

— În cazul derivaților care conțin gruparea fenil-sufonil, protonii din pozițiile meta, meta' și para al nucleului fenil apar sub forma unui multiplet caracteristic centrat la 7,5—7,7 ppm.

Prin introducerea unui al doilea substituent cu efect atrăgător de electroni în acest nucleu, ca de exemplu atomul de clor, gruparea parafenilenică rezultată prezintă un spectru tipic de tip AA', BB' în care jumătatea de la cîmp mai scăzut aparține în mod evident celor doi protoni din pozițiile orto față de gruparea sulfonică.

Prin trecerea de la derivatul para-clor substituit la cel para-brom substituit diferența de deplasare chimică între protonii adiacenți atomului de brom și cei adiacenți grupării sulfonice se reduce foarte mult, astfel încît rezonanța celor patru protoni apare practic sub forma unui singlet la valori aproximativ 8 ppm.

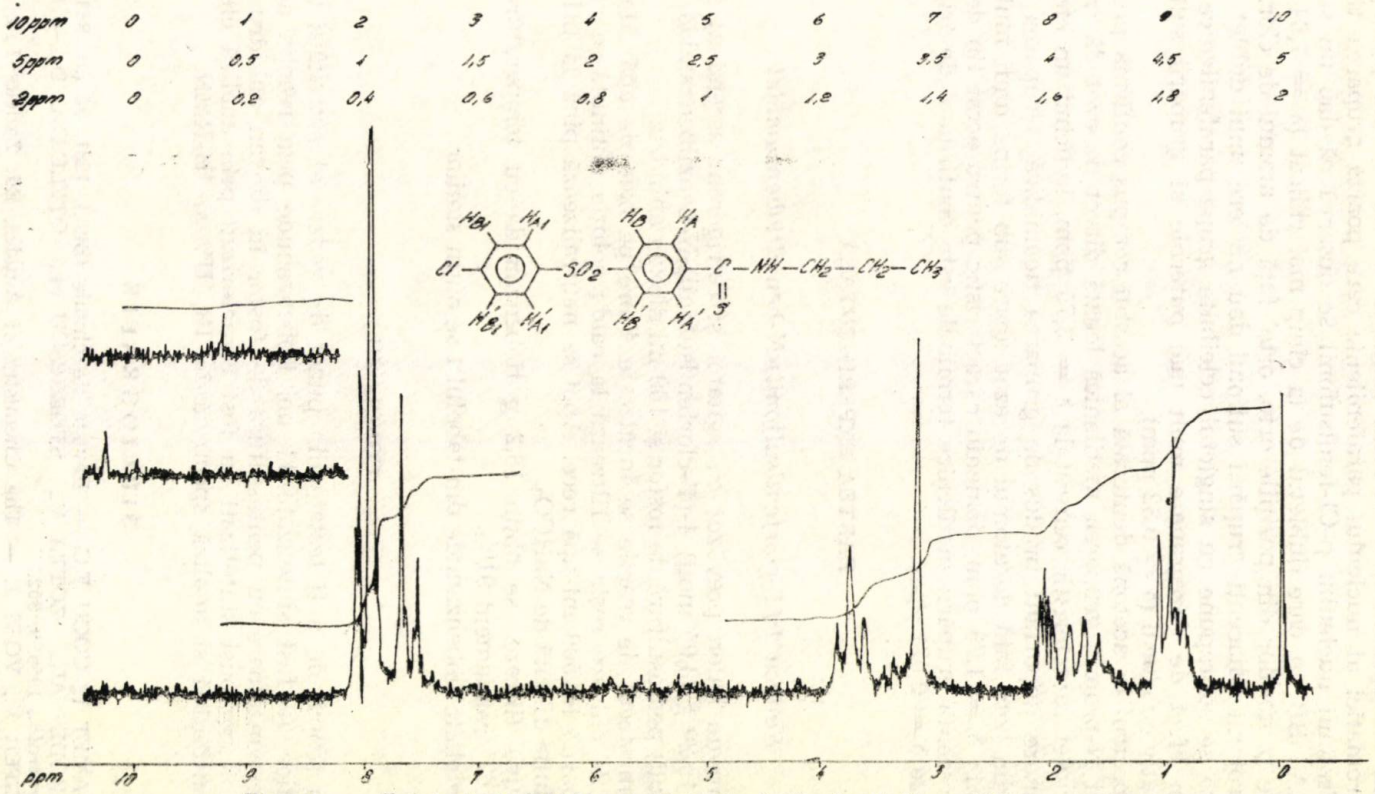


Fig. 6 — Spectrul H-R.M.N. al 4-(4'-clorfenilsufonil)-N-propiltiobenzamidei.

În spectrul 4-(4 clorfenilsulfonil)-N-propil-triobenzamidei (fig. 3), luat spre exemplificare, se atribuie singletul de la δ =7,95 ppm protonilor aromatici ai nucleului parafenilenic care poartă gruparea tioamidică. Protonii nucleului p-Cl-fenilsufonil se observă că dau un spectru tipic AA', BB' în care dubletul de la cîmp mai ridicat (δ = 7,64 ppm) aparține protonilor din pozițiile orto, orto' față de atomul de clor.

Protonii adiacenți grupării sulfonil dau naștere unui dublet simetric rase se suprapune cu singletul celeilalte grupe parafenilenice indicînd un efect de dezecranare mult mai puternic al grupării sulfonice comparativ cu clorul (δ = 0,32 ppm).

Spectrul în acetonă deuterată al acestui compus confirmă prezența grupării N-propil : gruparea metilenică legată direct de azot dă naștere unui triplet caracteristic centrat la δ = 3,75 ppm, indicînd un efect de dezecranare important produs de gruparea tioamidică. Gruparea metilenică din beta față de atomul de azot apare sub forma unui multiplet centrat la δ = 1,73 ppm, domeniu caracteristic pentru acest tip de protoni. Prezența grupării metilenice terminale este confirmată de tripletul centrat la δ = 0,971 ppm.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Sinteza 4-(4'-clorfenilsulfonil)-N-benziltiobenzamidei

Într-un balon prevăzut cu agitator și refrigerent ascendent se introduc 19,29 g (0,05 moli) 4-(4'-clorfenilsufonil)-N-benzilbenzamidă, 4,4 g (0,01 moli) pentasulfură de fosfor și 100 ml dioxan anhidru.

Amestecul de reacție se încălzește 4 ore pe baie de apă. Masa de reacție de culoare roșie se filtrează la cald ; soluția obținută se răcește și se toarnă în 500 ml apă rece. Apoi se neutralizează pînă la pH = 7 cu o soluție diluată de $NaHCO_3$.

După filtrare se obțin 18,2 g tiobenzamidă cu temperatura de topire 167°, randament 91%.

Celelalte tiobenzamide din tabelul I se obțin similar.

CONCLUZII

În scopul de a fi testate din punct de vedere al activității tuberculostatice au fost sintetizate 11 noi tiobenzamide prin reacția amidelor corespunzătoare cu pentasulfura de fosfor în dioxan anhidru.

Noii compuși sintetizați au fost caracterizați prin analiză elementară cantitativă și analiză spectrală în IR, UV și ^{1}H-RMN.

BIBLIOGRAFIE

1. SARAMET I., COCU F.G. — Revista de chimie (Buc.), 1981, 32 (9), 833.
2. MAVRODIN AL., ZOTTA V., STOENESCU M., OȚELEANU D. — *Pharm. Zentralh.*, 1956. 9, 352.
3. WALTER V., VOSS J. — The Chemistry of Amides, Ed. Zalicky Interscience N.Y., 1970, 391.
4. BARTON D., OLLIS W. D. — Comprehensive Organic Chemistry ed. a 10-a, Pergamon Press, Sutherland. 1979, 989.

5. BIGÓTTO A., GADESSO V., PAPPALARDO G.C. — *Spectrochim. Acta*, Part. I, 1980, 36 A (I), 59—67.
6. JENSENK K. A., NIELSEN P. H. — *Acta chem. scand.*, 1960, 20, 597.
7 .LEANDRI G., MANGINI A., PASSERINI R. — *Gaz. chim. Ital.*, 1954, 84. 73
8. JANSEN M. J. — *Rec. Trav. chim.*, 1960, 79, 464.
9. SANDSTRÖM J. — *Acta chem. scand.*, 1963, 17, 678.
10. BERG U., SANSTRÖM J. *Acta chem. scand.*, 1966, 20, 689.

Articol intrat în redacție la 17.X.1986.

Indicele de clasificare : 615.778:296.615.724.8

SUMMARY

Ioana Șaramet, Elena Bădău — NEW N-SUBSTITUTED THYOAMIDES

The reaction of amides was used, as well as that of di-phenylsulphonecarboxyllic acids with phosphor pentasulphur in dioxan medium for the obteintion of new N-substituted thyoamidic d compounds. The amides that were employed were obtained by reaction of chlorures of di-phensylsulphocarboxyllic acids with primary amines. The molecular structure of the new compounds was confirmed by spectral analysis in the infra-red, ultra-violet ranges and by ^{1}H-R.M.N.

P-Phenylsulphonil-N-alkly-(aryl)-benzamide
p-Phenylsulphonil-N-alkyl-(aryl)-thiobenzamide
I.R.
U.V.
^{1}-N.M.R.

РЕЗЮМЕ

Иоана Шарамет, Елена Вэдэу — НОВЫЕ Н-ЗАМЕЩЕНИЕ ТИОАМИДЫ

Используясь реакция амидов, дифенилосульфон-карбоксильных кислот с пентасульфидом фосфора в среде, содержащей безводный диоксан, были приготовлены новые тиоамидные N-замещенные соединения.

Примененные для этого амида были получены при помощи реакции хлоридов дифенилсульфон-карбоксильных кислот с первичными аминами.

Молекулярная структура новых соединений подтверждалась спектральным анализом в имфракрасном, ультрафиолетовом и H.R.M.N. излучении.

р — фенилсульфонил-N-алкил(арил)-бензамид
р — фенилсульфонил-N-алкил(арил)-тиобензамид
И.Р.
У.В.
^{1}-Р.М.Н.

REFERAT

EFECTELE CITOSTATICE ALE PROPOLISULUI, **J. Ban, St. Petrovic, D. Maysinger,** Acta pharm. jugoslav., 1983 33, 3, 245—257

Propolisul este folosit în medicina populară de multă vreme pentru binecunoscutele sale proprietăți bacteriostatice și fungistatice. S-au găsit în ultimul timp și alte efecte farmacologice ale acestui produs natural. Printre acestea : inhibarea dezvoltării protozoarelor, inhibarea proceselor osteogenetice accelerate, stimularea activității unor enzime, precum și cel de regenerare a țesuturilor.

Cunoscîndu-se activitatea moderată a unor flavonoizi (eupatin eupatoretin) față de celulele maligne (în culturi de celule în laborator), pe baza lucrărilor lui Hladon și colab. (*Arzneimittel-Forsch.-Drug Res.*, 1980, 30, 1847), care au făcut un studiu comparativ privind efectele citostatice ale extractului de propolis, ale unor flavonoizi izolați (galangin, quercitin, rhamnezin) și ale unui citostatic extrem de activ, hidroxiureea, autorii examinează *in vitro*, prin metode originale, activitatea citostatică a extractului de propolis. Folosindu-se culturi de țesuturi (celule He-La), s-au urmărit modificările morfologice, inhibiția dezvoltării celulare și precursorii radiomarcați încorporați în A.D.N.

Lucrarea prezintă interes pentru cei ce caută noi domenii de utilizare pentru produsele stupicole ; ea pune în evidență posibilitatea îmbogățirii terapiei anticanceroase cu un nou produs, problemă de mare actualitate în zilele noastre.

Silvia Chereches

Realizarea unor comprimate cu p-acetilaminobenzoat de dimetilaminoetanol

Aneta Verbuță, Ileana Cojocaru, I. Mîndreci, M. Lazăr, Doina Lazăr, N. Olaru, Marinela Pîrnuță, Georgeta Rusu

Facultatea de Farmacie, I.M.F. Iași

REZUMAT *S-au stabilit 2 formulări de comprimate cu p-acetilaminobenzoatul de dimetilaminoetanol. Comprimatele realizate sînt corespunzătoare sub aspectul calităților organoleptice, a greutății medii, variației în greutate, rezistenței mecanice și dezagregării, atît după preparare cît și în procesul conservării timp de 1 an. Cinetica absorbției apei și a sucului gastric artificial, determinate la aparatul Nogami, prin capilaritatea comprimatelor, demonstrează o textură cu o porozitate omogenă, ceea ce determină dezintegrarea totală în timp util a comprimatelor și deci o bună disponibilitate.*

Benzoați
Medicamente cu acțiune asupra sistemului nervos central
Comprimate
Tehnologie farmaceutică

p-acetilaminobenzoatul de dimetilaminoetanol (ABDE) are o acțiune de stimulare a S.N.C., confirmată de literatura de specialitate (3).

Dhawan și colab. (2) descriu efectele de stimulare a centrilor vasomotori ale 2-dimetilaminoetanolului (Dianol) și ale sărurilor sale, cu referire specială la p-acetilaminobenzoatul de dimetilaminoetanol.

În vederea lărgirii arsenalului terapeutic indigen cu medicamente psihotrope, am cercetat posibilitățile de comprimare directă a compusului ABDE pentru obținerea unor comprimate corespunzătoare fizico-chimic și biofarmaceutic.

MATERIAL ȘI METODĂ

Conținutul de ABDE a fost de 0,025 g/comp., conform datelor din literatură (3).

Din cauza colorării în galben a compusului ABDE în procesul comprimării indirecte, prin umectare în prezența amidonului și lactozei, precum și pentru ergonomia tehnologiei de preparare am utilizat comprimarea directă a substanței active cu excipienții pregranulați.

În urma a numeroase tatonări, în care s-au variat proporțiile de amidon, lactoză, amidon solubil, care s-au granulat cu spirt de gelatină, soluție hidroalcoolică de amidon sau de carboximetilceluloză, s-au ela-

borat 2 formulări corespunzătoare, pe care le notăm convențional prin formula N și O, a căror compoziție o prezentăm în tabelul I.

Pentru prepararea comprimatelor de tip N și O s-au pregranulat excipienții după regulile clasice, s-au amestecat cu substanța activă și

Tabelul I

Formula	Ingrediente								
	ABDE	Amidon de porumb	Lactoză pregranulată	Amidon și lactoză pregranulată	Amidon solubil	NaCl	$CMCNa_R$	Stearat de Mg	Total
N	0,025	0,055	0,100		0,090	0,010	0,010	0,010	0,30
O	0,025	—	—	0,175	0,090	—	—	0,010	0,30

ABDE = paraacetilaminobenzoatul de dimetilaminoetanol
$CMCNa_R$ = cloroximetilceluloză sodică indigenă.

cu lubrefiantul și s-au supus comprimării la mers electric cu mașina de comprimat indigenă tip M. Diametrul ponsoanelor a fost de 9 mm, presiunea de comprimare a fost de 4,5 kg/cm^2, iar greutatea comprimatului a fost de 0,30 g.

Calitatea celor 2 formulări, corespunzătoare ca aspect și ca rezistență mecanică (cădere pe o suprafață de lemn de la 1 metru înălțime), a fost urmărită în procesul conservării prin determinarea parametrilor : — caracteristici organoleptice, măsurători fizice, timpul de dezagregare în apă și în sucul gastric artificial al stomacului gol, rezistența mecanică, absorbția unor lichide prin textura capilară a comprimatului.

Greutatea medie, variația în greutate, timpul de dezagregare în apă și în sucul gastric artificial al stomacului gol (6) s-au determinat conform indicațiilor F. R. ed. a IX-a.

Rezistența mecanică a comprimatelor s-a determinat la un dispozitiv elaborat la nivelul laboratorului de fizică, cu care se exprimă forța de presiune pînă la sfărîmarea comprimatului (în newtoni).

Determinarea cantitativă a substanței active s-a făcut prin titrare cu acid percloric în mediu neapos, după o tehnică adaptată (3, 4). Absorbția lichidelor prin textura poroasă capilară a comprimatelor s-a efectuat cu ajutorul aparatului Nogami, reprodus de noi după indicațiile lui Couvreur și colab. (1).

Acest parametru dă indicații orientative asupra hidrofiliei comprimatelor, capilarității și deci a biodisponibilității (5). Lichidele de absorbție au fost : apa distilată la temperatura camerei (1) sau sucul gastric artificial al stomacului gol, cînd instalația Nogami s-a termostatat la 37°C±2°C.

S-au înregistrat volumele de lichid absorbite la 1, 2, 3 min., timp în care lichidul parcurge în întregime lungimea capilarelor și volumul de lichid, timpul și volumul de lichid de saturare.

Analizele s-au efectuat pe 5—10 comprimate din fiecare probă, iar rezultatele s-au exprimat sub formă de medie.

La mersul electric al mașinii indigene tip M, amestecurile de comprimare ale formulelor N și O au avut o curgere uniformă, rezultînd comprimate corespunzătoare organoleptic, fără modificări după un an de conservare.

Comprimatele sînt albe, omogene la suprafață și în secțiune, cu marginile întregi, suprafață lucioasă, ușor convexe.

Greutatea medie a probei „N" a fost de 0,3100 g și a probei „O" de 0,2926 g în limitele admise de F.R. ed. a IX-a. De asemenea și abaterea procentuală a greutății individuale a fost sub $\pm$ 7,5% pentru 90% din numărul total al comprimatelor determinate (F. R. IX).

Rezistența mecanică a celor 2 formulări de comprimate „N" și „O" este de 1,100, respectiv 1,133 kgf, iar în timp de un an se înregistrează creșteri ușoare de ordinul 10^{-2}.

Dezagregarea comprimatelor poate fi urmărită în fig. 1.

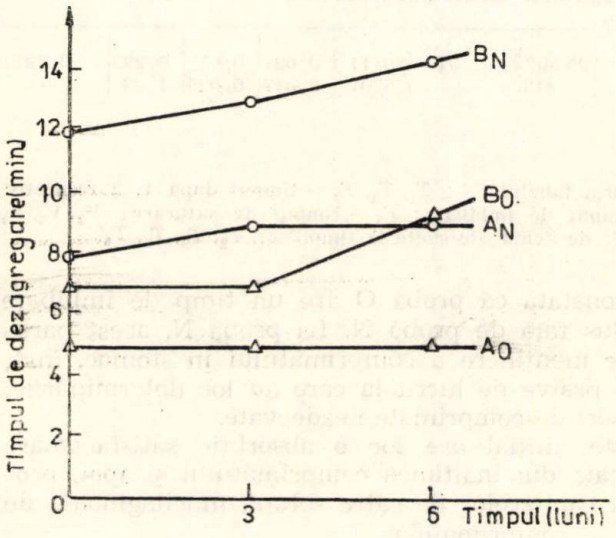


Fig. 1. — Timpul de dezagregare a comprimatelor cu ABDE, formulele „N" și „O"; A_N și A_O în apă și B_N și B_O în sucul gastric artificial al stomocului gol.

Din figura 1 se constată că timpul de dezagregare nu depășește limitele admise de F. R. ed. a IX-a la ambele formulări, în ambele lichide experimentale, după preparare sau în timpul conservării. Valorile obținute la determinarea cantitativă a principiului activ sînt redate în tabelul II.

Tabelul II

Determinarea cantitativă a comprimatelor cu p-acetilaminobenzoat de dimetilaminoetanol

Formula conform tab. I	Conținutul în substanță activă (g%)		
	După preparare	3 luni	6 luni
N	0,0248	0,0248	0,0249
O	0,0246	0,0245	0,0246

Conținutul în substanță activă la comprimatele corespunzătoare formulelor N și O, după preparare, înregistrează în procesul conservării timp de 6 luni valori ce corespund valorii declarate și se înscriu în limitele admise de F. R. ed. a IX-a (4).

Cinetica absorbției de lichide la comprimatele cu ABDE poate fi urmărită în tabelul III.

Tabelul III

Cinetica absorbției lichidelor la comprimatele cu p-acetilaminobenzoat de dimetilaminoetanol

Proba	Timpul (min.)					Volumul (ml)				
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5
Absorbția apei la temperatura camerei										
O	1	2	3	40	48′50″	0,03	0,055	0,073	0,30	0,32
N	1	2	3	284	300	0,02	0,03	0,051	1,13	1,135
Absorbția sucului gastric artificial al stomacului gol la 37°C										
O	1	2	3	29′30″	91	0,11	0,021	0,03	0,293	0,321
N	1	2	3	413	—	0,01	0,017	0,025	1,03	—

Legendă:

O, N — formulările conform tabelului I; T_1, T_2, T_3 — timpul după 1, 2 respectiv 3 min.; T_4 — timpul de îmbibare; T_5 — timpul de saturare; V_1, V_2, V_3, V_4, V_5 — volumele de lichid absorbite la timpii T_1, T_2, T_3, T_4, T_5.

Din tabelul III se constată că proba O are un timp de îmbibare total semnificativ mai redus față de proba N. La proba N, acest parametru depășește timpul de menținere a comprimatului în stomac, însă, ținînd seama de condițiile pasive de lucru la care au loc determinările, nu putem considera acest sort de comprimate neadecvate.

La aceste comprimate, inițial are loc o absorbție satisfăcătoare pînă la aproximativ jumătate din înălțimea comprimatului și apoi, probabil, apare o colmatare a capilarelor de către soluția mucilaginoasă de CMC-Na din compoziție a comprimatelor.

CONCLUZII

În urma talonării la 13 formulări notate de la A la M s-au stabilit 2 formulări de comprimate cu p-acetilaminobenzoatul de dimetilaminoetanol, pe care le-am notat convențional prin N și O și a căror compoziție este prezentată în tabelul I.

Comprimarea s-a efectuat pe cale directă cu substanța activă, folosind o parte din excipienți sub formă pregranulată, cu parametrii de comprimare la mașina indigenă tip M, reproductibili și comozi.

Comprimatele realizate sînt corespunzătoare sub aspectul calităților organoleptice, a greutății medii, variației în greutate, rezistenței mecanice, dezagregării, atît după preparare, cît și în procesul conservării timp de un an.

Cinetica absorbției apei prin capilaritate demonstrează o textură cu o porozitate omogenă, ceea ce garantează dezintegrarea totală a comprimatului și deci o bună biodisponibilitate.

Formulările elaborate de noi și maniera tehnologică de lucru nu au influențat negativ asupra metodelor de analiză calitativă și cantitativă, utilizîndu-se în cea mai mare parte metodele descrise de literatură, respectiv N. I. a produsului „Bimanol" realizat de firma de medicamente „Polfa".

BIBLIOGRAFIE

1. COUVREUR P., GILIARD Y. — *Ann. Pharm. franç.*, 1978, 3—4, 123—132.
2. DHAWAN K. N. și colab. — *J. Pharmacol. jap.*, 1974, 648.
3. * * * — Norma internă „Bimanol", Polfa R.P.P.
4. * * * — Farmacopeea Română, ed. a IX-a, Ed. Medicală, București, 1976.
5. RITSCHEL W. A. — Angewandte Biopharmazie. Wissenschaftliche Verlag gesellschaft M.B.H., Stuttgart, 1973, p. 366.
6. STĂNESCU V. — Comprimate farmaceutice, Ed. Medicală, București, 1972, pp. 3—60 ; 127—130.

Articol intrat în redacție la 24.III.1986

Indicele de clasificare : 615.752.6—014.125

SUMMARY

Aneta Verbuță, Ileana Cojocaru, I. Mîndreci, M. Lazăr, Doina Lazăr, N. Olaru, Marinela Pîrnuță, Georgeta Rusu — THE PRODUCTION OF TABLETS CONTAINING p-ACETYLAMINOBENZOATE OF DIMETHYLAMINOETHANOLE

Two formulas have been established, for tablets containing p-acetylaminobenzoate of dimethylaminoethanole. The tablets are satisfactory from the viewpoints of their organoleptic qualities, of their median weight, of the weight variation, mechanical resistance and disaggregation both immediately after preparation and after storage for one year. The kinetics of water and gastric juice absorption, determined with the Nogami apparatus by capillarity of the tablets, have demonstrated homogenous porosity and this assures total disintegration in the right time interval, and a good availability.

РЕЗЮМЕ

Анета Вербуцэ, Илеана Кожокару, И. Мындреч, М. Лазэр, Дойна Лазэр, Н. Олару, Маринела Пырнуцэ, Джорджета Русу — ПРИГОТОВЛЕНИЕ ТАБЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ *Р*-АЦЕТИЛАМИНОБЕНЗОАТ ДИМЕТИЛАМИНОЭТАНОЛА

Авторы выработали две формулы таблеток, содержащих *р*-ацетиламинобензоат диметиламиноэтанола. Приготовленные таблетки являются соответствующими общеизвестным требованиям в отношении их органолептических своуств, среднего веса, вариаций последнего, механической устойчивости и раздробления как немедленно после их заготовки, так и во время их сохранения в течение одного года.

Кинетика абсорбции воды и искусственного желудочного сока, определяемая на аппарате Ногами, благодаря капиллярности таблеток, доказывает наличие структуры с гомогенной пористостью, что и обусловливает полное и своевременное рассасывание таблеток и, значит, и хорошее их использование.

REFERAT

CHEMOEMBOLIZAREA : PRINCIPII ŞI PERSPECTIVE, **Ph. Madoule. Ph. Trampont, A. Roche,** J. Microencapsulation, 1984, **1, 1,** 21—25.

Chemoembolizarea este un nou concept terapeutic. Procedeul constă în injectarea substanţei medicamentoase sub formă de microcapsule, care urmează să ajungă pe calea cateterizării arteriale la locul de acţiune unde este cedată

Primele comunicări privind acest nou sistem terapeutic au fost făcute de cercetătorii japonezi în jurul anilor 1978—1980, cu referire la injectarea microcapsulelor cu mitomicină C în terapia antitumorală benignă şi malignă.

Chemoembolizarea oferă în terapia antitumorală avantajele terapiei „ţintite" ; o excepţională selectivitate pentru ţesuturile vizate şi minimalizarea reacţiilor adverse prin ocolirea ţesuturilor nelezate.

De subliniat că transportul medicamentului prin sistemul arterial depinde nu numai de mărimea microcapsulelor, ci şi de elasticitatea pereţilor vaselor.

Embolizarea cu microparticule încărcate cu medicament poate oferi ţesuturilor bolnave dozele netoxice pentru restul organismului.

Studiile în curs şi viitoare vor elucida factorii care favorizează transportul la locul de acţiune, timpul de eliberare a substanţei active, aderenţa microemboliilor pe pereţii seringii, cateterului şi alte aspecte particulare.

După cum conchid autorii, rezultatele de pînă acum au dovedit eficacitatea terapeutică printr-o reducere a reacţiilor adverse, îmbunătăţirea confortului pacienţilor şi relativa simplitate, dacă administrarea este făcută de personal specializat în tehnicile moderne de cateterizare vasculară.

Lucrările viitoare vor putea preciza tehnicile de preparare şi administrare a microemboliilor în lupta anticanceroasă, alături de celelalte procedee clasice — chirurgia, radioterapia, chemoterapia sistemică, imunoterapia şi hipertermia.

Silvia Chereches

Cercetări în seria derivaţilor de triazină
(Nota II)

Elena Cristea, Ana Tătaru
Facultate de Farmacie, Bucureşti

REZUMAT *S-au obţinut prin sinteză 5 noi derivaţi de 2,6-diamino-triazină şi s-au efectuat testări în vederea stabilirii profilului lor farmacologic. Se discută influenţa substituenţilor asupra toxicităţii şi asupra unor efecte.*

Diuretice tiazidice
Chimie, farmacie

Substanţele din seria derivaţilor de triazină sînt interesante din punct de vedere terapeutic avînd acţiune diuretică, efecte vasodilatatoare sau activitate antimicrobiană şi antifungică (2, 7, 8). Se folosesc pentru o acţiune diuretică marcată amiloridul, amanozinul, clorazanilul (8).

Într-o lucrare anterioară, s-au prezentat investigaţiile farmacodinamice asupra unor derivaţi de 2,6-diamino-triazină obţinuţi prin condensarea cianguanidinei cu amine aromatice disubstituite, după un brevet austriac (2) conform reacţiei din fig. 1.

In continuare, alţi noi cinci compuşi din seria respectivă fac obiectul prezentei note. Ei au fost sintetizaţi prin condensarea ciangunidinei cu anisidină, o-, m- sau p-aminofenolul sau cu 2,6-xilidina. Structura substanţelor este redată în tabelul I.

Partea experimentală

1. Sinteza derivaţilor de triazină

1.1. N-(4'-hidroxifenil)-2,4 diamino-1, 3, 5 triazina (T_{14})

Într-un balon cu două gîturi prevăzut cu refrigerent ascendent şi termometru se introduc 5 g (1 mol) cianguanidină, 6,4, g (1 mol) p-hidroxianilină şi 15 ml acid clorhidric 20% şi se încălzeşte la reflux pe baie de nisip la 100° timp de o oră. După care se adaugă 90 ml acid formic 98% şi se continuă încălzirea la 100—105° timp de 5 ore. Apoi se distilează la vid pe baie de apă aproximativ 65—70 ml lichid (2), iar reziduul cald se trece în 70 ml apă răcită şi i se aduce pH la 4 cu hidroxid de sodiu 20%. După răcire cristalizează, se esorează şi se usucă. Se obţin 7 g (randament 58,77%) de produs insolubil la rece în apă şi unii sol-

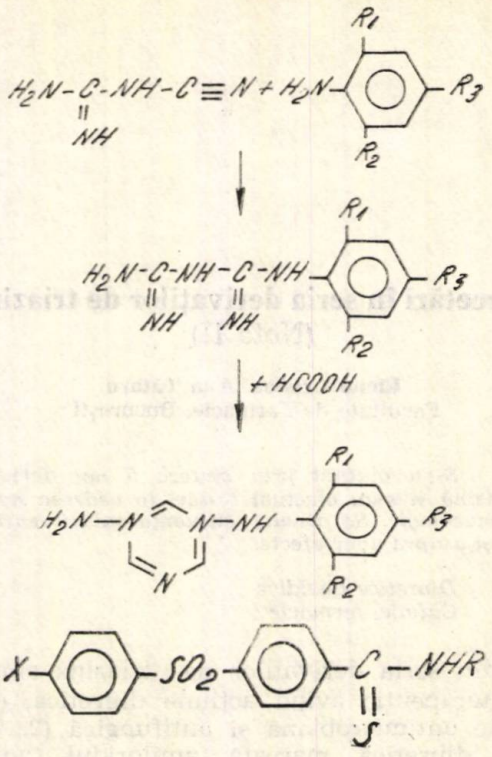


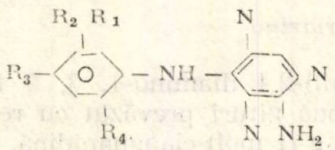
Fig. 1

venți organici, parțial solubil în etanol și alcool amilic și solubil la cald în acid acetic și apă din care se recristalizează. Punctul de topire (Boetius) : 276°. $C_{18}H_9N_5O$
G.m. = 203,202
C% teoretic = 53,19
C% practic = 53,49

Tabelul 1

Structura chimică a substanțelor studiate și a urofortului

Formula generală :



Denumirea convențională	R_1	R_2	R_3	R_4
T_{14}	H	H	—OH	H
T_{16}	—OCH_3	H	H	H
T_9	H	—OCH_3	H	H
T_{12}	H	H	—OCH_3	H
T_{15}	—CH_3	H	H	—CH_3
Urofort	H	H	H	H

H% teoretic = 4,46
H% practic = 4,95
N% teoretic = 30,02
N% practic = 29,90

1.2. N-(2'-metoxifenil)-2.4 diamino-1, 5-triazina (T_{16})

În condițiile menționate pentru compusul de la 1.1. se pun 5 g (1 mol) cianguanitidină, 7,32 g (1 mol) ortoanisidină proaspăt distilată și 15 ml acid clorhidric 20%. A rezultat 7 g produs (randament 54,22%) insolubil în apă (la rece), în benzen, cloroform, acetat de etil. Solubil la cald în etanol, metanol, alcool anilic, din care se recristalizează. Punct de topire : 168—170 (Maquenne).

$C_{10} H_{11} N_5O$
G.m. = 217,228
C% teoretic = 55,28
C% practic = 55,00
H% teoretic = 5,10
H% practic = 5,60
N% teoretic = 32,24
N% practic = 32,40

1.3. N-(3'-metoxifenil)-2,4diamido-1, 3, 5 triazina (T_9)

În condițiile menționate la 1.1. se iau în lucru 5 g cianguanidină (1mol), 7,3 g (1 mol) metaanisidină și 15 ml acid clorhidric 20%. A rezultat 6,5 g produs (randament 52,41%). Compusul este insolubil în apă (la rece), în benzen, toluen, ciclohexanol, dar este solubil la cald în apă, alcool amilic, xilen. Punctul de topire : 155—160° (Maquenne).

$C_{10} H_{11} N_5O$ G.m. = 217,228
C% teoretic = 55,28 H% teoretic = 5,10 N% teoretic =32,24
C% practic = 55,60 H% practic = 5,56 N% practic = 32,30

1.4. N-(4'metoxifenil) -2,4, diamino-1, 3, 5-triazina (T_{10})

Lucrînd după metoda de la 1.1. din 5 g (1 mol) cianguanidină, 7,32 g (1 mol) paraansidină și 15 ml acid clorhidric 20% se obțin 8 g (randament 62%) produs insolubil la rece în apă și în majoritatea solvenților organici, insolubil la cald în etanol, xilen, cloroform și solubil în acid acetic la cald și în alcool amilic sau ciclohexanol, din care se recristalizează. Punctul de topire : 225° (Maquenne).

$C_{10} H_{11} N_5O$ G.M. = 217,228
C% teoretic = 55,28 H% teoretic = 5,10 N% teoretic = 32,24
C% practic = 55,50 H% practic = 5,61 N% practic = 32,20

1.5. N-(2,6'-dimetil-benzen)-2,4, diamino-1, 3, 5-triazină (T_{15})

Respectînd condițiile de reacție descrise la 1.1. din 5 g (1 mol) cianguanidină, 7,2 g (1 mol) 2,6 xilidină și 15 ml acid clorhidric 20% a rezultat 7,5 g (randament 58,63%) compus insolubil la rece în apă și unii solvenți organici ; solubil la cald în etanol, acetonă, cloroform, acid acetic, alcool amilic din care se recristalizează. Punct de topire : 205—210° (Maquenne).

$C_{11}H_{13}N_5$ G.m. = 215,254
C% teoretic = 61,37 H% teoretic = 6,08 N% teoretic = 32,54
C% practic = 61,87 H% practic =6,38 N% practic =32,84

1.6. N-fenil-2,4-diamino-1, 3, 5-triazina (urofort)

Lucrînd în condițiile de la punctul 1.1. din 12,5 g (1 mol) cianguanidină, 30 ml acid clorhidric 20% și 13,9 g (1 mol) anilină a rezultat

13 g (randament 64,5%) produs, insolubil la rece în apă și unii solvenți organici, solubil la cald în toluen, benzen, etanol și xilen din care se recristalizează. Punct de topire : 232—236° (Maquenne).

$C_9H_9N_5$ G.m. = 187,121

C% teoretic = 52,42 H% teoretic = 4,84 N% teoretic = 37,41

C% practic = 52,73 H% practic = 5,00 N% practic = 37,43

2. Cercetări farmacodinamice

2.1. Material și metode

2.1.1. Determinarea toxicității acute s-a făcut pe șoareci albi, de ambele sexe, repartizați uniform în 10 loturi de cîte 5 animale. Substanțele aduse în suspensii apoase 5—10% au fost administrate oral în doze cuprinse între 250 și 1 000 mg/kilocorp, iar citirea mortalităților s-a făcut după 72 ore. S-a stabilit DL_{50} cu ajutorul metodei grafice.

2.1.2. Acțiuni asupra sistemului nervos central.

S-au aplicat metodele obișnuite din cadrul screening-ului farmacodinamic (4) pentru investigarea acțiunii tranchilizante, sau analgezice sau anticonvulsionale, antidepresive etc. Compușii în studiu s-au administrat oral în doză egală cu $DL_{50}/10$.

2.1.3. Acțiunea asupra cordului fibrilant s-a testat pe șoareci puși într-o atmosferă saturată cu vapori de cloroform la 30 min. după tratament cu substanțele în studiu sau cu chinidină în doză de 100 mg/kilocorp. S-a apreciat efectul protector cu ajutorul unei scări, în care s-a notat cu 1 punct fibrilația atrială sau ventriculară și cu 2 puncte un cord cu ambele tipuri de aritmie (4).

2.1.4. Acțiunea diuretică s-a cercetat pe 7 loturi de cîte 5—10 șobolani albi, masculi în greutate de 130—175 g, care au fost hidratați cu NaCl 0,9%—25 ml/kilocorp oral și tratați oral, im. sau ip. cu substanțele de cercetat în doze de : 5, 10 și 25 mg/kilocorp, respectiv cu 0,02 ; 0,04 și 0,1 mmol pe kilocorp. Ca etalon în afară de urofort în doze similare s-au mai folosit acetazolamida — 100 mg/kilocorp, hidroclorotiadiazida (Nefrix) 5 și 10 mg/kilocorp oral.

Animalele s-au introdus în dispozitive pentru colectarea urinei și după 5 ore s-au măsurat : volumul de urină execrată, pH, iar conținutul în anioni clor s-a determinat argentometric. Șobolanii au fost reluați în lucru după un repaus de 10—14 zile. S-a calculat volumul mediu de urină excretată, în fiecare lot exprimarea făcîndu-se pentru 100 g animal (greutate corporală).

REZULTATE

Toxicitatea acută

Triazinele testate au grade diferite de toxicitate. După valorile DL_{50} (tabelul II) cea mai puțin toxică este substanța T_{14} cu DL_{50} egal cu 1 122 mg/kilocorp, urmată de T_{16}, cu DL_{50} = 832 mg/kilocorp și T_{10} cu DL_{50} = 793,70 mg/kilocorp. Mai mici sînt dozele letale 50% ale substanțelor T_{15} și T_9.

Acțiuni asupra sistemului nervos central

Din tabelul III se constată următoarele : compușii studiați au diminuat motilitatea normală a șoarecilor în proporții mici (20—40%) și n-au

Tabelul II

Doza letală 50% a substanțelor studiate

Substanța	DL_{50} (mg/kilocorp) la șoarece
T_{14}	1 122
T_{16}	832
T_9	655,25
T_{10}	793,70
T_{15}	732

antagonizat efectul hipermotor indus de amfetamină (5 mg/kilocorp ip.). Substanțele T_{15}, T_{16} și T_{14} au avut efect de scădere a ptozei reserpinice la șoareci după 1 și 2 ore de la injectarea reserpinei (2,5 mg/kilocorp ip), dar acțiunea lor este inferioară substanței etalon (imipramină — 25 mg/kilocorp). Fără efect au fost T_9 și T_{16} (tabelul IOV).

Acțiunea anticonvulsivantă s-a studiat folosind pentetrazolul în doză de 60 mg/kilocorp ip. (DC_{50}) injectat la o oră la martori și la loturile tratate cu substanțele în testare sau cu fenobarbital 100 mg/kilocorp oral. Compușii T_9 și T_{15} au protejat 75%, iar T_{10} numai 50% din șoarecii tratați, iar substanța etalon a oferit o protecție 100%.

Tabelul III

Acțiunea substanțelor în studiu și a hidroxizinei asupra motilității normale și asupra hipermotilității amfetaminice

Substanța	Motilitatea spontană scădere (%) la:		Hipermotilitate prin amfetamină antagonizare (%) la:		
	1 h	2 h	30 min.	60 min.	120 min.
T_{14}	30	40	20	20	0
T_{16}	20	20	0	0	0
T_9	40	20	20	0	0
T_{10}	20	40	0	0	0
T_{15}	40	20	0	0	0
Hidroxizina	60	40	40	80	40

Tabelul IV

Influența substanțelor studiate și a imipraminei asupra ptozei rezerpinice la șoarece

Substanța	Punctaj mediu/șoarece *	Efect protector (%)
T_{14}	1,46	101
T_{16}	1,60	121
T_9	0,99	37
T_{10}	1,45	100
T_{15}	1,90	162
Imipramina	2,40	231
—	0,725	—

* testare la 2 ore după injectarea rezerpinei 2,5 mg/kilocorp.

Acțiunea analgezică s-a cercetat folosind ca stimul chimic o soluție diluată de acid acetic (0,6%—0,1 ml/10 g animal) și notîndu-se contorsiunile produse după o pauză de 180 secunde pe parcursul a 10 minute. Ca substanță de referință s-a folosit noraminofenazona — 100 mg/kilocorp oral, față de care (scădere cu 68,30% a numărului de contorsiuni) au avut oarecare acțiune analgezică substanțele T_{16} și T_9 (tabelul V).

Tabelul V

Acțiunea analgezică a substanțelor cercetate și a noraminofenazonei față de un stimul chimic

Substanța	Numărul mediu de contorsiuni/șoarece	Efect de scădere (%)
T_{14}	21,70	40,55
T_{16}	18,50	53,00
T_9	24,20	33,70
T_{10}	26,10	28,80
T_{15}	34,50	0
Noraminofenazona	11,46	68,30
—	36,50	—

Somnul indus de tiopental (50 mg/kilocorp ip.) a fost prelungit de compușii T_{16} și T_9 și n-a fost modificat de restul substanțelor.

Acțiune antifibrilantă studiată la șoareci pretratați și apoi introduși într-o atmosferă saturată de vapori de cloroform, a fost prezentă la loturile tratate cu T_{15} și T_9, protecția fiind de 44% și respectiv 42,20%, iar pentru compusul T_{16} egală cu 37,35%. Chinidina în doză de 80 mg/kilocorp oral a protejat 77,50% (tabelul VI)

Tabelul VI

Acțiunea substanțelor studiate și a chinidinei asupra fibrilației experimentale la șoarece

Substanța	Punctaj mediu/șoarece	Efectul protector (%)
T_{14}	1,46	12,00
T_{16}	1,04	37,35
T_9	0,96	42,20
T_{10}	1,23	26,00
T_{15}	0,93	44,00
Chinidina	0,37	77,00
—	1,66	—

Acțiunea diuretică

Tiazidele în studiu în doză de 5 mg/kilocorp oral cresc diureza la șobolan, cea mai activă este substanța T_{10}. Nefrixul în aceeași doză produce un efect dublu (tabelul VII). La doza de 10 mg/kilocorp oral toate substanțele cu excepția compusului T_{10} cresc diureza cu valori cuprinse între 76,66% și 82,20%, depășind acțiunea urofortului și sînt cu 50% mai mici decît efectul substanței etalon (hidroclortiadiazida).

Efectul diuretic nu crește cu mărirea dozei la 100 mg/kilocorp (de 10 ori) și comparativ cu acetazolamida în doză egală, diureza este mult mai redusă.

Tabelul VII

Efectul asupra diurezei al substanțelor cercetate, al urofortului, acetazolamidei și al hidroclorotiazidei

Substanța	Doza : 5 mg/kilocorp oral Creșterea (%) a		Doza : 10 mg/kilocorp oral Creșterea (%) a		Doza : mg/kilocorp ora Creșterea (%) a	
	Diurezei	Excreția Cl^-	Diurezei	Excerția Cl^-	Diurezei	Excreția Cl^-
T_{14}	10,00	30,80	76,66	20,00	32,50	14,60
T_{16}	28,20	34,75	80,60	44,70	—	—
T_9	23,50	32,04	82,20	19,75	38,80	19,20
T_{10}	50,28	47,20	78,33	16,40	21,04	17,39
T_{15}	17,45	35,40	35,86	37,60	22,73	15,00
Urofort	47,78	39,00	60,00	41,00	—	—
Acetazolamida	—	—	—	—	93,00	18,43
Hidroclorotiazida	113,00	120,00	169,00	170,00	—	—

Excreția anionului clor n-a prezentat modificări semnificative la loturile de animale ce au primit 10 și respectiv 100 mg/kilocorp și a fost crescută după doza de 5 mg/kilocorp, cu 47,20% la șobolanii care au primit substanța T_{10} și cu valori cuprinse între 30,80 și 35,40% la restul compușilor.

Tabelul VIII

Efectele triazinelor cercetate asupra sistemului nervos central

1 = efectul cel mai intens
5 = efectul cel mai slab sau absent

Substanța	Motilitate		Acțiune			Potențarea somnului barbituric	Punctaj mediu
	normală	stimulată	antidepresivă	analgezică	anticonvulsivantă		
T_{14}	5	5	2	5	5	5	4,5
T_{16}	4	5	5	5	5	5	4,8
T_9	5	5	5	2	3	3	3,8
T_{10}	3	5	3	3	4	5	3,8
T_{15}	2	5	2	2	2	2	2,5

DISCUȚII

Sinteza celor cinci derivați de triazină s-a realizat și în scopul stabilirii influenței unor substituenți asupra efectelor farmacologice, comparativ cu urofortul, diuretic folosit în terapeutica unor țări, în molecula căruia nu sînt prezenți radicali grefați pe inelul aromatic.

S-a constatat că introducerea radicalului metil crește toxicitatea față de radicalul hidroxil (T_{14}), dar în plus intensifică unele efecte. În urma analizei acțiunilor asupra sistemului nervos central, dacă se face exprimarea prin *1*, pentru acțiunea cea mai intensă, și prin 5 pentru un efect slab sau absent se constată că cel mai activ ca deprimant este compusul T_{15}, care are doi radicali metil în pozițiile 2 și 6 ale inelului aromatic, care de altfel are și toxicitatea actuă cea mai scăzută. Urmează apoi cmpușii T_{10} și T_9 și pe ultimele locuri se plasează substanțele T_{14} și T_{16}.

Asupra cordului intoxicat cu cloroform și fibrilant, au efect protector triazinele cu radical metil în poziția meta și cu doi radicali metil (2 și 6), dintre care T_{15} a avut și un efect antirezerpinic marcat.

Acțiunea diuretică a substanțelor testate este moderată — doza optimă producerii unei diureze nu prea mari este egală cu 10 mg/kilocorp oral respectiv 0,046 mmol/kilocorp, face excepție compusul T_{15}, cu activitate mai slabă.

În comparație cu urofortul mai activi au fost restul de produși (T_{14}, T_{16} și T_{10}) la doză echimoleculară, evidențiindu-se prin aceasta influența pozitivă a radicalilor respectivi pe inelul aromatic din structura triazinelor studiate.

În concluzie : s-au sintetizat și testat farmacodinamic cinci noi derivați de triazină, dintre care pare să fie interesați compușii : T_{10} și T_{16}.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * — Brevet austriac, *Chem. Abstr.*, 1959, 206442.
2. CLANDER O., ZEMPLEN B. — Brevet, *Chem. Abstr.*, 1951, 168063.
3. DOBRESCU D. — Farmacoterapie, Ed. Medicală, București, 1981.
4. DOBRESCU D., CRISTEA E., CRISTEA A., MURGU L. — Farmacodinamie — lucrări practice, Litografia IMF, București, 1978.
5. TĂTARU A., CRISTEA E. — *Farmacia (Buc.)*, 1979, *27*, 2, 117.
6. TURNER R. — Screening methods in pharmacology, vol. I. Academic Press, Londra — New York, 1963.
7. METZNER J., PAINTZ M. — *Pharmazie*, 1981, *36*, 10, 714.
8. * * * — Rote liste, Aulenduf/Württ., 1982, 35040.

Articol intrat în redacție la 27.I.1986

Indicele de clasificare : 547.873:615.761

SUMMARY

Elena Cristea, Ana Tătaru — STUDIES ON THE SERIES OF TRIAZINE DERIVATES *Note II.*

Five new derivates of 2,6-diamino-triazine were obtained by synthesis, and test were carried out in view of establishing their pharmacologii characteristics. The influence is discussed, of the substituents, on the toxicity, and on some of the effects.

РЕЗЮМЕ

Елена Кристя, Анна Тэтару—ИССЛЕДОВАНИЯ В СФЕРЕ СЕРИИ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИАЗИНА *(Заметка II)*

С помощю синтетического метода авторы получили 5 новых производных 2,6-диамино-триазина, которые были затем подвергнуты ряду проб в целях установления их фармакологического профиля. Обсуждается влияние заменителей на токсичность и на некоторые получаемых результаты.

Acţiunea medicamentului Tonobil asupra eritropoiezei medulare

P. Petcu***, Z. Uray**, E. Bordaş*, Ecaterina Andronescu***

REZUMAT

S-a studiat pe 30 şobolani albi Wistar efectul medicamentului Tonobil asupra eritropoiezei medulare deprimată cu ciclofosfamidă.

Pre- şi posttratamentul cu acest medicament stimulează semnificativ eritropoieza medulară, manifestată prin creşterea incorporării radiofierului şi prin dispariţia modificărilor morfologice medulare, apărute sub efectul citotoxic al ciclofosfamidei. Rezultatele obţinute arată că, pe lîngă efectele cunoscute, Tonobilul acţionează favorabil şi la nivelul organelor hematoformatoare, ceea ce poate deschide noi perspective în tratmentul complicaţiilor hematologice apărute în cursul chimioterapiei.

Colagoge — *Chimioterapie*
Eritropoieză — *Complicaţii*
Neoplasm — *Experiment*

Tratamentul complicaţiilor hematologice apărute în cursul chimioterapiei prezintă un interes deosebit.

Printre substanţele utilizate ca protectori ai organelor hematopoetice sînt menţionate : vitaminele, acidul folic, cistamina, glutationul, extractele hepatice, transfuzii cu trombocite şi sînge integral, iar mai recent şi medicamentele hepatoprotectoare.

În lucrarea de faţă am cercetat efectul medicamentului Tonobil, cu acţiune hepatoprotectoare, coleretică şi colagogă, asupra eritropoiezei medulare pe şobolani expuşi chimioterapiei cu ciclofosfamidă.

MATERIAL ŞI METODĂ

Experienţele au fost efectuate pe 30 şobolani albi Wistar, masculi de 250 ± 20 g ţinuţi la un regim standard de vivariu.

Animalele de experienţă au fost împărţite în următoarele loturi a cîte 10 animale : I. Lot martor tratat cu ser fiziologic ; II. Lot tratat cu ciclofosfamidă ; III. Lot tratat cu ciclofosfamidă şi Tonobil.

Durata experimentului a fost de 17 zile.

Animalele martor au fost injectate zilnic cu ser fiziologic ip., în doză de 0,5 ml.

* Institutul de Igienă şi Sănătate Publică, Cluj-Napoca
** Institutul Oncologic, Cluj-Napoca
*** Facultatea de Farmacie, I.M.F. Cluj-Napoca

Ciclofosfamida s-a administrat ip., în doză de 40 mg/kg animal timp de 3 zile, în zilele 4, 5, 6 de experiment.

Medicamentul Tonobil s-a administrat per oral în doză de 1,0 ml/animal în primele 3 zile (pertratament) și după tratamentul cu ciclofosfamidă timp de 5 zile, în zilele 7, 8, 9, 10 și 11 (posttratament).

Cu trei ore înainte de sacrificare, toate animalele au fost injectate ip., cu 1,0 μ Ci Fe-69, în 0,5 ml ser fiziologic. Modelul experimentului este prezentat în tabelul I.

Animalele au fost sacrificate prin exsanguiinare în necroză cu eter. Pentru determinările hematologice s-a recoltat măduvă din femur, colorată și prelucrată prin metoda de rutină.

Tabelul I

MODELUL EXPERIMENTULUI

Lotul	Pretratament — în zilele 1 2 3	Intoxicat — în zilele 4 5 6	Posttratament — în zilele 7 8 9 10 11	Perioada de refacere — în zilele 12 13 14 15 16	Sacrificare în ziua a 17-a
Martor	0,5 ml ser ip./zi	0,5 ml ser ip./zi	0,5 ml ser ip./zi	—	injecții ip. cu 1,0u $CiFe^{69}$ cu 3 ore înainte de sacrificare
Tratat cu ciclofosfamidă	0,5 ml ser ip./zi	50 mg/kg ip./zi ciclofosfamidă	0,5 ml/ser ip./zi	—	
Tratat cu ciclofosfamidă + Tonobil	1,0 ml Tonobil p.o./zi	40 mg/kg ip./zi ciclofosfamidă	1 ml p.o./zi Tonobil	—	

Încorporarea radiofierului s-a determinat pe femurul colateral. Probele au fost măsurate cu un contor de scintilație prevăzut cu un cristal scobit de NaI, cuplat la un numărător electronic de particule VACUTRONIC CA-M-16 D.

Încorporarea radiofierului în măduvă din femur a fost exprimată în impuls/min./femur.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele privind încorporarea radiofierului în măduva hematogenă din femur sînt prezentate în tabelul II. Tratamentul cu ciclofosfamidă timp de 3 zile, în doză de 40 mg/kg, deprimă semnificativ eritropoieza medulară a animalelor, manifestată prin scăderea încorporării radiofierului, de la 964 ± 60 impuls/min./femur, la 535 ± 45 impuls/min./femur. Captarea măduvei față de doza administrată a fost de numai 0,26%, comparat cu valoarea de 0,48%, găsită la lotul martor tratat cu ser fiziologic.

Pre- și posttratamentul cu Tonobil, în doză de 1,0 ml/zi/animal, timp de 8 zile, stimulează semnificativ refacerea eritropoiezei deprimată de ciclofosfamidă, prin creșterea încorporării medulare a radiofierului (1 379 ± 75 impuls/min./femur) și prin captarea crescută față de doza administrată de radiofier (0,68%).

Tabelul II

Încorporarea radiofierului în măduva hematogenă din femur la șobolani tratați cu ciclofosfamidă și Tonobil

Lotul	Imp./min./femur $\bar{x} \pm$ E.S.	Captare față de doza administrată (%)	Creștere față de martor (%)	p
Martor	964 ± 60	0,48	100	
Tratat cu ciclofosfamidă	535 ± 48	0,26	55,4	p 0,001
Tratat cu ciclofosfamidă + Tonobil	1 379 ± 75	0,68	143	p 0,01

La examenul măduvei osoase, lotul martor tratat cu ser fiziologic a prezentat un aspect polimorf, măduva fiind bogată în diferite linii celulare, prezentînd diferite stadii de dezvoltare, cu predominarea granulocitelor și precursorilor lor.

În lotul tratat cu ciclofosfamidă, modificările au constat din inversarea raportului limfocite/granulocite, în sensul creșterii proporției de granulocite neutrofile, cu reducerea procentajului de limfocite.

La animalele tratate cu Tonobil, aspectul medular indică o regenerare globală a liniilor celulare, mai evidentă pe linia eritrocitară cu predominanța formelor bazofile, cu reapariție limfocitozei, monocitozei, mostocitozei eozinofiliei și dispariia modificărilor apărute sub efectul citotoxic al ciclofosfamidei.

Medicamentul Tonobil este un preparat de origine vegetală (3, 5) cu efect hepatoprotector, antimicrobian (1), colagog și coleretic (2, 4, 6), recomandat în colecistite, colecistopatii, dischinezii biliare și hepatoză toxică. Rezultatele obținute în această lucrare arată că, pe lîngă aceste efecte cunoscute, Tonobil-ul acționează favorabil la nivelul organului hematoformator — măduva osoasă, lezată în prealabil cu un medicament citostatic, ciclofosfamida.

Pe baza acestor rezultate se pot deschide noi perspective de utilizarea acestui medicament și în tratamentul complicațiilor hematologice apărute în cursul chimioterapiei.

CONCLUZII

— Scăderea încorporării radiofierului indus de ciclofosfamidă crește semnificativ după administrarea medicamentului Tonobil.

— Modificările morfologice medulare observate sub acțiunea Tonobilului confirmă revenirea eritropoiezei medulare inhibată de ciclofosfamidă.

BIBLIOGRAFIE

1. ANDRONESCU ECATERINA, PETCU P., RADU A. — *Cluj. med.*, 1973, 3, 627—632.
2. GOINA T. și colab. — Articole și lucrări științifice, I.M.F. Cluj, 1957, p. 55—64.
3. PETCU P. — Teză de doctorat, I.M.F. — Tg. Mureș, 1960.

4. PETCU P. — *Arch. Pharm.*, 1969, *9*, 680—682.
5. PETCU P., GOINA T. — *Planta med. (Stuttg.)*, 1970, *4*, 372—375.
6. PETCU P., BORDAȘ E. ECATERINA ANDRONESCU, SILVIA BARBU — *Farmacia (Buc)*, 1984, *2*, 87—91.

Articol intrat în redacție la 24.III.1986.

Indicele de clasificare : 15.742—092.25.9—06:616.155.1—007.1

SUMMARY

P. Petcu, Z. Uray, E. Bordas, Ecaterina Andronescu — THE EFFECTS OF TONOBIL ON MEDULARY ERYTHROPOIESIS

The efects of Tonobil on bone-marrow erytrhropoiesis were studied in 30 Wistair rats in wich depression of the medullary function was induced with cyclophosphamide. Administration of the drug before and after cyclophosphamide resulted in a significant stimulation of bone-marrow erytropoiesis, reflected in increased incorporation of radioactive iron, and the disappearence of morphologic changes determined by the cytotoxic effect of cyclophosphamide. The results have demonstrated that, besides the know effects Tonobil also has a favourable influence in the blood-forming organs, a fact wich may open new perspectives for the treatment of hematologic complications that occur in the course of chemotherapy.

РЕЗЮМЕ

П. Петку, З. Урай, Е. Бордаш, Екатерина Андронеску —ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ТОНОБИЛ НА МЕДУЛЛЯРНЫЙ ЭРИТРОПОЭЗ

На группе из 30 белых крыс Вистар изучалось действие лекарственного препарата Тонобил на медуллярный эритропоэз, предварительно нарушенный препаратом циклофосфамид.

Назначаемый до и после лечения последним препаратом, Тонобил значительно стимулирует медуллярный эритропоэз, выражаясь повышением включения радиожелеза и исчезновением морфологических медуллярных изменений, появившихся под цитотоксическим действием циклофосфамида. Полученные результаты показывают, что наряду с его известными действиями, Тонобил действует благоприятным образом и на уровне кроветворных органов, что может открывать новую перспективу в лечении гематологических осложнений, возникающих во время химиотерапии.

Determinarea conținutului de alcaloizi totali, respectiv de hiosciamină din *Scopoliae luridae radix* și din extracte de *Scopolia*

A. Gyeresi, Klaudia Szantho, L. Fülöp

Disciplina de Chimie Farmaceutică, Facultatea de Farmacie, Tîrgu Mureș

REZUMAT *În cadrul cercetărilor îndreptate spre valorificarea terapeutică a plantei* Scopolia lurida, *sin.* Anisodus luridus *(fam.* Solanaceae), *s-a experimentat o metodă semimicro-volumetrică prin titrare în sistem bifazic cu dioctilsulfosuccinatul de sodiu (DOSS-Na), pentru determinare conținutului de alcaloizi tropanici.*

Metoda este aplicabilă atît în cazul rădăcinii, ca și în cazul extractelor de Scopolia lurida *(tinctură, extract moale).*

Alcaloizi Extracte
Scopolaminum

Datele din literatura de specialitate (10), respectiv cercetările noastre începute încă în 1979 (3, 4), dovedesc complexitatea deosebită a conținutului de principii active existente în rădăcinile de *Scopolia lurida,* sin. *Anisodus luridus* (fam. *Solanaceae).*

Cercetările noastre îndreptate spre valorificarea superioară a acestei materii prime foarte valoroasă au necesitat elaborarea unei metode semimicro-adecvate, pentru evaluarea conținutului de alcaloizi totali al rădăcinilor de *Scopolia lurida* și al preparatelor-extractive.

Procedeele clasice — printre care și metoda prevăzută de Farmacopeea Română ediția a IX-a (9) la monografia „*Belladonnae radix*" — se pot aplica în acest caz cu multe dificultăți, avînd în vedere atît conținutul ridicat de baze volatile, respectiv de scopoletină al rădăcinii de *Scopolia lurida.*

Pornind de la faptul că există o serie de date în literatura de specialitate (1, 2, 5—8) în legătură cu formarea de complecși ai bazelor organice respectiv alcaloizi cu agenți tensioactivi anionici (de ex. dioctilsulfosuccinat de sodiu), am experimentat o metodă semimicro-volumetrică prin titrare în sistem bifazic. Ne-am bazat în acest sens pe rezultatele lui Pellerin și colab. (6—8), respectiv Matolcsy (5), privitoare la dozarea alcaloizilor — printre care și dozarea atropinei.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Metoda experimentală se bazează pe formarea unui complex al atropinei şi al altor componenţi bazici cu dioctilsulfosuccinatul de sodiu (DOSS-Na), insolubil în faza apoasă şi solubil în fază organică (cloroform).

MATERIAL ŞI METODĂ

— Soluţie titrată de DOSS-Na 0,005 M(*) (2,40 g DOSS-Na/1000 ml)
— soluţie titrată de DOSS-Na 0,01 M (4,80 g DOSS-Na/1000 ml)
— soluţie tampon cu pH = 2, 2(20 ml $Na_2HPO_4.2\ H_2O$ 0,2M + 980 ml soluţie acid citric 0,1M)
— indicator : amestec de galben de dimetil (2p) şi verde de malachit (1p), soluţii cloroformice 0,1%
— cloroform p.a.

Pentru a stabili precizia metodei, la început am efectuat o serie de determinări în cazul sulfatului de atropină, folosind o soluţie 0,2%, în alcool dil. S-au luat în lucru cantităţi în jur de 5 g soluţie, alcoolul fiind eliminat prin încălzire pe baia de apă, concentrînd pînă la un volum de cca 2 ml.

În paralel se prepară amestecul : 20 ml cloroform + 10 ml sol. tampon (pH = 2,2) + 5 picături indicator. Acest amestec — titrat în prealabil pînă la coloraţie verde cu DOSS-Na 0,005 M — se aduce peste soluţia de atropină. Se titrează — folosind o microbiuretă — pînă la trecerea coloraţiei fazei cloroformice în roşu-violet, prin cenuşiu.

Analizînd rezultatele cuprinse în tabelul I, se poate constata o bună reproductibilitate a rezultatelor. După experienţa noastră precizia metodei este optimă la determinarea unor cantităţi de 8—9 mg.

Tabelul I

Determinarea sulfatului de atropină cu DOSS-Na 0,005 M

Nr. probei	Cantitatea cîntărită (mg)	Cantitatea regăsită		Abatare de la medie %	Calculul statistic
		mg	%		
1	8,521	9,334	97,80	—0,04	
2	8,506	8,335	97,97	0,13	
3	8,581	8,399	97,87	0,03	$\bar{x}=97,84\%$
4	8,716	8,465	97,12	—0,72	k=9
5	8,884	8,725	98,21	0,37	$\alpha=95$
6	8,620	8,356	96,94	—0,90	t=2,26
7	8,695	8,534	98,15	0,31	$S_{\bar{x}}=0,16$
8	8,740	8,592	98,31	0,47	$A=97,84\pm0,08$
9	9,850	8,637	97,60	—0,24	
10	8,528	8,394	98,77	0,60	

*) Factorul se stabileşte cu clorhidrat de papaverină (0,1870 g în 1000 ml), titrînd 10 ml soluţie după tehnica descrisă în cazul sulfatului de atropină (1 ml DOSS-Na 0,005 M ... 0,0018792 g papav. HCl).

1. *Dozarea conținutului de alcaloizi totali din rădăcinile de Scopolia lurida*

Pentru extracția alcaloizilor 1,0000 g rădăcină pulverizată (sita nr. V) se macerează timp de 3 ore cu un amestec de : 2 ml amoniac conc. + 2 ml etanol + 4 ml eter. Urmează extracția cu amestecul eter-cloroform (3:1), de trei ori cu cîte 15 ml, decantînd de fiecare dată. Soluțiile extractive se filtrează printr-un filtru umectat cu aceiași solvenți. Balonul și pulberea se spală cu 5 ml amestec de solvenți (din această soluție se verifică dacă extracția a fost totală, spotulînd pe strat de silicagel și detectînd cu reactivul Dragendorff).

Soluțiile extractive filtrate se evaporă pe baia de apă în fierbere. Reziduul se încălzește încă 15 minute. După răcire, reziduul se dizolvă în 3 ml cloroform apoi se evaporă, urmînd o nouă încălzire timp de 15 minute — pentru eliminarea bazelor volatile.

În continuare, reziduul se dizolvă în amestecul bifazic, efectuînd mai departe tehnica descrisă la dozarea atropinei.

2. *Dozarea conținutului de alcaloizi totali al extractelor obținute din rădăcinile de Scopolia lurida*

În cazul soluțiilor extractive alcoolice : *Tinctura Scopoliae* (tinctura „primară"), *Tinctura Scopoliae purificata* (tinctura primară purificată prin cromatografie pe coloană), *Tinctura Scopoliae purificata diluta*, se iau în lucru cantitățile trecute în tabelul II. În fiecare caz la început alcoolul se elimină prin încălzire pe baia de apă, concentrînd la a 1/5-a parte a volumului inițial.

Extractul moale de *Scopolia* (extractum spissum) a fost obținut prin concentrarea în raport de 1:100 a tincturii purificate de *Scopolia lurida*. În acest caz — ca și la rădăcină — se face o extracție repetată, de 4 ori.

Rezultatele obținute în cazul preparatelor extractive de *Scopolia lurida* sînt trecute în tabelul II.

Tabelul II

Conținutul de alcaloizi totali al rădăcinii de Scopolia lurida și al preparatelor extractive determinat cu DOSS-Na 0,01 M

Nr. crt.	Denumirea	Cantitatea cîntărită (g)	Conținutul în alcaloizi totali exprimați în hiosciamină (%)
1	*Scopoliae radix*	1,0000	2,70—2,97
2	*Tinctura Scopoliae* („primară")	6,0000	0,41—0,45
3	*Tinctura Scopoliae purificata* *	6,0000	0,112—0,117
4	*Tinctura Scopoliae diluta* *	25,0000	0,027—0,033
5	*Extractum Scopoliae spissum*	0,1000	5,01—5,21

* determinare cu DOSS-Na 0,005 M.

CONCLUZII

S-a experimentat o metodă semimicro-volumetrică pentru determinarea alcaloizilor totali tropanici în cazul rădăcinilor de *Scopolia lurida* şi în cazul extractelor obţinute din această materie primă vegetală (tinctură, extract moale).

Se titrează cu dioctilsulfosuccinatul de sodiu (DOSS-Na), folosind soluţii de 0,005 resp. 0,01 molare în sistem bifazic : cloroform — soluţie tampon cu pH = 2,2 (2:1), în prezenţa indicatorului amestec : galben de dimetil — verde de malachit, soluţii cloroformice 0,1% (2:1).

S-a constatat că metoda experimentată se poate aplica cu rezultate bune atît în cazul materiei prime vegetale, cît şi al preparatelor extractive.

BIBLIOGRAFIE

1. ALBERT F. M., AFTALION H., SIMIONOVICI R. — *Rev. Chimie (Buc.)*, 1968, *19*, 5, 283—286.
2. BLAZSEK-BODO AGNES, JOZSA JUDIT KISS ILONA — *Rev. Med. (Tg. Mureş)*, 1980, *26*, 1, 69—74.
3. GYERESI A., SZANTHO KLAUDIA, FÜLÖP L., ROCSIN M. A. — Cercetări în vederea valorificării speciei Scopolia lurida sin. Anisodus luridus (fam. Solanaceae) ca sursă de atropină. Rezumatele lucrărilor la cel de Al VIII-lea Congres Naţional de Farmacie, Bucureşti, 1984, p. 49.
4. GYERESI A., FÜLÖP L., ROCSIN M. A., SZANTHO KLAUDIA — Studiu privind transpunerea tehnicii cromatografiei în strat subţire pe coloană de absorbţie, pentru izolarea alcaloizilor tropanici din extracte vegetale. Rezumatele lucrărilor la Sesiunea anuală de valorificare a cercetării ştiinţifice a Centrului de Cercetări Medicale, Tîrgu-Mureş, 1981, p. 193.
5. MATOLCSY I. — *Acta pharm. hung.*, 1968, *38*, 1, 23—27.
6. PELLERIN F., GAUTHIER J. A., DEMAY D. — *Ann. Pharm. franç.* 1966, *24*, 11, 675—680.
7. PELLERIN F., DEMAY D., MANCHERON D. — *Ann. Pharm. franç.* 1967, *25*, 9/10, 613—619.
8. PELLERIN F., MANCHERON D., DEMAY D. — *Ann. Pharm. franç.*, 1972, *30* 6, 429—432.
9. * * * — Farmacopeea Română, ed. a IX-a. Ed. Medicală, Bucureşti, 1976.
10. * * * — Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, vol. VI. Springer Verlag, Berlin— Heidelberg — New York, 1979.

Articol intrat în redacţie la 14.VI.1985.

Indicele de clasificare : 615.784.:615.32 Scopolia

SUMMARY

A. Gyeresi, Klaudia Szantho, L. Fülöp — THE DETERMINATION OF THE TOTAL ALKALOID CONTENTS, AND OF HIOSCIAMIN FROM SCOPOLIAE LURIDAE ROOTS AND FROM EXTRACTS OF SCOPOLIA

In the setting of studies aimed at the therapeutic valorification of *Scopolia lurida*. sin. *Anisodus luridis (Solanaceae* family), a semi-micro volumetric method was experimented, by toitration in a biphasic system with sodium doctyl-sulphosuccinate (Na-DOSS), for the evaluation of the tropanic alkaloid contents. The method can be applied both for the roots and for extracts of *Scopolia lurida* (tincture, soft extracts).

РЕЗЮМЕ

А. Гиереси, Клаудия Санто, Л. Фюгёп – ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ АЛКОЛОИДОВ И, СООТВЕТСТВЕННО – ГИОСЦИАМИНА В SCOPOLIAE LURIDAE RADIX И В ЭКСТРАКТАХ SCOPOLIA

В рамках исследований, направленных на лечебное освоение растения *Scopolia luridae*, син. *Anisodus luridis*/семейство *Solonaceae*/,был испытан полумикро-волюметрический метод титрирования в двухфазной системес доктилсульфосукцинатом натрия (*DOCC-Na*), для определения содержания тропановых алкалоидов.

Метод может быть применим как в отношении корней, так и в отношении экстрактов *Scopoliae lurica* (в виде тинктуры или густого экстракта).

REFERATE

DEGRADAREA HIDROCORTIZONULUI ÎN LOȚIUNI CONȚINÎND SULFAT DE ZINC, **P. Timmins, E. A. Gray**, J. Clin. Hosp. Pharm., 1983 8, 79—85 ; cit. în : Int. Pharm. Abstr., 1984, 21, 18

S-au întreprins studii pentru investigarea stabilității hidrocortizonului în loțiunile cu oxid de zinc, determinîndu-se cinetica de descompunere și produșii de degradare. S-a constatat o cinetică de ordinul I a descompunerii hidrocortizonului pînă la 21-dehidrohidrocortizon și o serie de alți compuși de degradare, care au fost de asemenea identificați prin cromatografie.

Metode variate de stabilizare prin ajustare pH, adaosul de antioxidanți, agenți chelatori au fost fără succes. S-a conchis că studiul scoate în evidență pericolul descompunerii hidrocortizonului în unele formulări.

Silvia Chereches

ACIDUL LINOLEIC ȘI ACIDUL LINOLENIC : CARE ESTE ESENȚIAL ? **B. A. Bivins, R. M. Nell, R. P. Rapp, W. O. Griffen.** J. parent. enter. Nutr., 1983, 7, 473—478, cit. în : Int. Pharm. Abstr., 1984 *21*, 14, 1 587, 2107649.

Se discută implicațiile deficienței de acizi grași esențiali, prezentîndu-se aspectele ce privesc nevoile de acid linoleic ale organismului, ca și lipsa unei evidențe asupra nevoilor de acid linolenic. Sînt incluse date referitoare la rolul acizilor grași în sinteza de prostaglandine și asupra compoziției în acizi grași a țesuturilor.

Silvia Chereches

RECENZIE

LE PIRPROFÈNE DANS LE TRAITEMENT DE LA DOULEUR ET DE L'INFLAMATION (PIRPROFENUL ÎN TRATAMENTUL DURERII ȘI AL INFLAMAȚIEI), sub redacția *Van der Korst*, Amsterdam, 1985

Rezumate ale simpozionului internațional asupra pirprofenului „Rengasil, antireumatismal și analgezic", ținut la Paris 23 iunie, 1981.

Volumul cuprinde studii de farmacologia pirprofenului, incluzînd farmacocinetica pirprofenului, eficacitatea acestuia în reumatismul extraarticular, studii comparative pirprofen-acid acetilsalicilic în tratamentul de durată al reumatismului, eficacitatea efectului analgezic al pirprofenului în afecțiuni maligne.

Mecanismele acțiunii pirprofenului la nivel celular sînt pe larg studiate în volum, autorii arătînd că pirprofenul inhibă transportarea acidului arahidonic în tromboxani, ultimii acționînd ca agreganți plachetari foarte puternici. Pirprofenul este totodată inhibitor de prostagladin-sinteză. Spre deosebire de celelalte antiinflamatoare, și analgezice nesteroidice, pirprofenul nu e nociv asupra cartilajelor articulare. Prin complexitatea abordării teoretice și practice a profilului farmacodinamic al acestui medicament, volumul se adresează atît cercetătorilor în farmacologie, medicilor cît și studenților în medicină și farmacie.

Gabriela Văduva

SZÁMÍTÁSTECHNIKAI INFORMÁCIÓS MŰSZAKI KÖNYVTÁR

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Т. Морайт, Е. Морайт, Е. Елиопулос — *Вклад в вопрос дозировке доксициклина (Вибрамицина). Заметка II. Новые методы химической и спектрофотометрической дозировки* 1

Василика Антонеску, Санда Иосиф, Ирина Предеску, К. Джорджеску — *Вклад в изучение экстракта из VACCINUM MYRTILIUS. Заметка I. Физико-химический анализ* 11

Вероника Нача, Юдит Фюлёп — *Спектрофотометрические определения нового соединения, обладающего анальгетическим свойством: ТЕРЕФТАЛ-ДИ (Н-Фенил)-пиперазида* 21

Иоана Шарамент, Елена Бэдэу — *Новые Н-замещенные тиоамиды* 31

Анета Вербуцэ, Иляна Кожокару, И. Мындреч, М. Лазэр, Дойна Лалэр, И. Олару, Маринела Пырнуцэ, Джорджета Русу — *Осуществление ствойств с и-ацетил аминобензоатам гиметиламинаэтанола* 41

Елена Кристя, Анна Тэтару — *Исследования в области серии производных триазина (Заметка II)* 47

П. Петку, З. Урай, Е. Бордаш, Екатерина Андронеску — *Действие лекарственного препарата Тонобил на медуллярный эритропоэз* 55

А. Гереси, Клаудия Санто, Л. Фюлёп — *Определение содержания тотальных алкалоидов и, соответственно — гиосциамина в SCOPOLIAE LUCIDAE RADIX и в SCOPOLIAE экстрактах* 59

Рефераты

SUMAR

Pag.

Gh. Morait, M. Morait, E. Eliopoulos — *Contribuții la dozarea doxiciclinei (Vibramicinei). Nota II. Noi metode de dozare chimică și spectrofotometrică* 1

Vasilica Antonescu, Sanda Iosif, Irina Predescu, C. Georgescu — *Contribuții la studiul extractului de* Vaccinium myrtillus. Nota I. Analiza *fizico-chimică* 11

Veronica Nacea, Judith Fülöp — *Determinarea spectrofotometrică a unui nou compus cu acțiune analgezică: tereftal-di (N-fenil)-piperazida* . 21

Ioana Șarmet, Elena Bădău — *Noi tioamine N-substituite* 31

Aneta Verbuță, Ileana Cojocaru, I. Mîndreci, M. Lazăr, Doina Lazăr, N. Olaru, Marinela Pîrnuță, Georgeta Rusu — *Realizarea unor comprimate cu p-acetil-aminobenzoat de dimetilaminoetanol* 41

Elena Cristea, Ana Tătaru — *Cercetări în seria derivaților de triazină* (Nota II) 47

P. Petcu, Z. Uray, E. Bordaș, Ecaterina Andronescu — *Acțunea medicamentului Tonobil asupra eritropoiezei medulare* 55

A. Gyeresi, Klaudia Szantho, L. Fülöp — *Determinarea conținutuui de alcaloizi totali, respectiv de hiosciamină din* Scopoliae lucidae radix *și din extracte de* Scopolia 59

Referate

1987 JUN 1 87

„Cititorii din străinătate se pot abona prin ROMPRSFILATELIA — sectorul Export-import presă P. O. Box 12-201 Telex 10376, București, Calea Griviței nr. 64—66".

EDITURA MEDICALĂ

I. P. Informația, c. 2763 **Lei 10**

E2159 04 Gyógyszer

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMANIA

64

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

R 1987 JUN 2 4
Referálva

COLEGIUL DE REDACȚIE :

Redactor responsabil :	prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct :	prof. V. STĂNESCU
Secretari responsabili de redacție :	conf. VASILICA ANTONESCU
	prof. ST. TĂMĂȘDAN

MEMBRI :

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEȘAN (Cluj-Napoca), prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iași), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iași), conf. Z. FÎRȘIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, prof. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, prof. D. OȚELEANU, farm. V. POPOVICI (Timișoara), farm. NICULINA POPA, conf. E. PUȘCARU, conf. N. ȚUCHEL, farm. R. VASILIEV.

2

APRILIE — IUNIE 1987

CONTENTS

Page

St. Tămăşdan, Elena Cristea, Denisa Mihele, Ana Tătaru — Modification of some biochemical constants under the influence of new derivatives of triazine. *Note I* 65

V. Zoţa, Elena Grigorescu, Paraschiva Birză, Gabriela Popa — Studies on triazolidine class. *Note II* 71

E. Curea, I. Ban, E. S. Leucuţa, M. Bojiţă, E. Cardan — Influence of buffering and of microencapsulation of acetylsalicylic acid on the dissolving speed and bioavailability 75

Denisa Mihele, Elena Cristea, St. Tămăşdan, Ana Tătaru — Modification of some biochemical constants under the influence of new derivatives of triazine. *Note II* 83

Elena Cristea, Jana Soare, Al. Missir, Ileana Chiriţă, Mihaela Dinulescu, Domnica Enescu — Pharmacodynamic studies on new derivatives of thioureea. *Note II.* 89

Iuliana Popovici, Eliza Gafiţeanu, Steriana Braha, Florica Dima, Maria Vasilescu — Rheological characterization of dermal emulsions of the U/A containing erytromycine lactobionate employed in the treatment of pyodermitis. *Note II* 97

S. E. Leucuţa — The influence of solubility and of the repartition coefficient of fluocinolon-acetonide in the phases of an emulsion-onguent (oil in water) on the *in vitro* diffusion and on bioavailability to the skin 109

S. E. Leucuţa, H. Rişca, D. Daicoviciu — Influence of metronidazole administration as gelatine microspherules on the pulmonary pharmacokinetics of an intravenous bolus administration in the rat 119

Chronicle

Conclusions of the Second Symposium of Biopharmacology and Pharmacokinetics (May 30 1986, Cluj-Napoca) 127

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

Redacția : București, str. Progresului nr. 10, Sectorul I — Telefon 13.89.73 — 14.10.71

VOLUMUL XXXV APRILIE 2 IUNIE 1987

Modificările unor constante biochimice sub influența unor noi derivați de triazină

Nota I

Șt. Tămășdan, Elena Cristea, Denisa Mihele, Ana Tătaru

REZUMAT *S-au testat 7 noi derivați de triazină alături de urofort, pentru stabilirea acțiunii lor asupra colesterolemiei, glicemiei, natremiei, kalemiei și asupra acidității gastrice la șobolan.*

Toți compușii au redus moderat glicemia, cu excepția urofortului.

Colesterolul seric total a fost scăzut la animalele tratate cu T_{15}, T_7 și T_{14}, iar electroliții serici (Na^+, K^+) sînt moderat diminuați de T_9. Substanțele scad și aciditatea gastrică; cele mai active au fost T_{11}, T_7, urofortul și T_{16}.

Triazide
Experiment
Electroliți
Glicemie
Colesterolemie
Secreție gastrică

În scopul obținerii de noi medicamente din seria derivaților de triazină, s-au sintetizat în Facultatea de Farmacie noi compuși avînd în structura lor 2,6 diaminotriazina (2, 3).

Structura substanțelor cercetate și a urofortului luat ca etalon este prezentată în tabelul I.

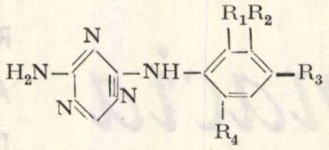
În terapeutică, din această clasă, se utilizează amanozinul și clorazanilul cu efecte diuretice.

Studiile farmacodinamice asupra derivaților noi de triazină au fost orientate în vederea stabilirii acțiunii lor.

În continuare s-au cercetat efectele produse de aceste substanțe asupra glicemiei, colesterolemiei, natremiei și kalemiei și asupra acidității gastrice.

Tabelul 1

Structura substanțelor testate — triazine



Deriv.	R_1	R_2	R_3	R_4
T_{14}	H	H	OH	H
T_{16}	OCH_3	H	H	H
T_9	H	OCH_3	H	H
T_{10}	H	H	OCH_3	H
T_{15}	CH_3	H	H	CH_3
T_{11}	OC_2H_5	H	H	H
T_7	H	H	OC_2H_5	H
Urofort	H	H	H	H

MATERIAL ȘI METODĂ

Substanțele testate și urofortul s-au folosit sub formă de suspensii apoase 1% cu adaos de gumă arabică 0,25%.

S-au lucrat pe șobolani albi, masculi, în greutate de 130—160 g, uniform repartizați în loturi de cîte 5—6 animale și ținuți la post 18 ore.

S-au aplicat tehnicile curente de lucru în Farmacodinamia experimentală (4, 5), unele date succinte asupra lor prezentîndu-se odată cu rezultatele.

1. *Acțiunea asupra colesterolemiei și glicemiei*

S-au luat în lucru 9 loturi de animale, la care substanțele de cercetat s-au injectat i.m., în doză de 25 mg/kilocorp.

După două ore și patru ore de la tratare, se sacrifică animalele prin sîngerare, se colectează sîngele și se separă serul prin centrifugare.

Un lot este tratat cu apă cu adaos de gumă arabică și servește drept martor.

Se determină colesterolemia cu ajutorul reactivului Zurkowski (4).

Glicemia s-a determinat colorimetric în același ser, folosindu-se metoda cu o-toluidină (5).

REZULTATE

Din tabelul II se constată că față de martor numai compusul T_{10} crește nivelul colesterolului seric, iar substanțele T_{14}, T_{15} și T_7 produc scăderea acestuia.

Fără acțiune sînt produsele T_{16}, T_9, T_{11} și urofortul.

Glicemia este moderat diminuată de toate substanțele, cu excepția urofortului.

2. *Acțiunea asupra natremiei și kalemiei*

Serul obținut în condițiile mai sus menționate a fost utilizat pentru cercetarea natremiei și kalemiei, aplicînd metoda flamfotometrică.

S-a utilizat flamfotometru digital cu afișaj cifric tip I.I.473.

REZULTATE

Din tabelul II se constată că numai substanța T_9 scade moderat natremia și kalemia, restul compușilor neproducînd modificări.

Tabelul II

Acțiunea triazinelor testate asurpa colesterolemiei, glicemiei, natremiei și kalemiei

Substanța	*Doza mg/kilocorp i.m.*	*Colesterol total mg/100 ml*	*Glicemie mg/100 ml*	*Natremie mEq/l*	*Kalemie mEq/l*
—	—	86,50	71,10	136	6,30
T_{14}	25	77,15	60,00	137	6,55
T_{16}	25	83,75	64,74	139,3	6,90
T_9	25	85,65	61,07	132	6,05
T_{10}	25	96,30	60,00	134,5	6,45
T_{15}	25	74,27	63,68	135,5	6,44
T_{11}	25	85,14	60,73	134,65	7,02
T_7	25	76,40	66,67	134,5	6,10
Urofort	25	82,66	73,50	136,5	6,35

3. *Acțiunea asupra secreției gastrice*

S-au luat în lucru 9 loturi de cîte 15 șobolani albi masculi, cu greutatea cuprinsă între 115—170 g, ținuți la post de alimente 15 ore și primind numai apă.

S-a aplicat tehnica descrisă de Shay (cit. de 4) care constă în ligaturarea pilorului la animale narcotizate cu eter etilic.

Tratamentul s-a efectuat imediat după revenirea din narcoză cu substanțele de cercetat și urofort, în doză de 25 mg/kilocorp i.m. Martorii au primit soluție fiziologică 10 ml/kilocorp i.m.

După 2, 4 și 7 ore de la tratament, din fiecare lot s-au sacrificat cîte 5 șobolani la care s-a excizat stomacul.

După deschiderea pe linia marii cluburi, s-a măsurat volumul conținutului gastric și s-a determinat aciditatea liberă și totală (5).

REZULTATE

După 2 ore conținutul gastric mediu (ml/100 g animal) a fost scăzut cu valori cuprinse între 51,06—72,34% (tabelul III) la toate animalele tratate. Aciditatea liberă a fost zero la toate animalele iar aciditatea totală a fost scăzută față de martori la șobolanii tratați cu T_{16} (—70,42%); T_{11} (—49,68%); T_7 (—45%) și urofortul (—25,80%).

Restul animalelor au prezentat creșteri ale acidității totale cuprinse între 17,10% și 50,64% (tabelul III).

După 4 ore conținutul gastric mediu a fost scăzut la toate animalele tratate, cu excepția șobolanilor care au primit T_{15} și la care nu

s-au produs modificări mici asupra acidității libere. Restul compușilor testați au determinat scăderea atît a acidității libere cît și a acidității totale. Cele mai active au fost substanțele : T_{11}, T_7 și T_{16} (tabelul IV).

Tabelul III

Substanța	*Doza mg/kilocorp i.m.*	*Conținutul gastric mediu ml/100 g*	*Aciditate gastrică 2 h*			
			Aciditate liberă		*Aciditate totală*	
			mEq/l	*E%*	*mEq/l*	*E%*
—	—	4,70	4,50	—	30,98	—
T_{14}	25	1,70	0	—100	46,50	+50,40
T_{16}	25	1,30	0	—100	9,17	—70,42
T_9	25	1,48	0	—100	38,44	+24,00
T_{10}	25	1,47	0	—100	46,70	+50,64
T_{15}	25	2,30	0	—100	36,32	+17,10
T_{11}	25	1,68	0	—100	15,60	—49,68
T_7	25	2,00	0	—100	14,50	—45,00
Urofort	25	3,02	0	—100	23,06	—25,80

Tabelul IV

Substanța	*Doza mg/kilocorp*	*Conținutul gastric mediu ml/100 g*	*Aciditate gastrică 4 h*			
			Aciditate liberă		*Aciditate totală*	
			mEq/l	*E%*	*mEq/l*	*E%*
—	—	2,64	15,02	—	35,90	—
T_{14}	25	1,60	0	—100	33,10	8,26
T_{16}	25	1,20	10,30	—68,60	19,80	—44,95
T_9	25	1,43	8,03	—46,45	28,57	—20,64
T_{10}	25	1,77	7,29	—51,40	28,08	—22,00
T_{15}	25	2,50	15,93	0	31,63	—11,86
T_{11}	25	1,60	0	—100	14,04	—61,00
T_7	25	1,44	1,34	—91,07	14,30	—60,28
Urofort	25	1,80	1,10	—92,03	15,20	—61,80

După 7 ore conținutul gastric a scăzut la animalele tratate cu substanțele de cercetat cu excepția loturilor care au primit T_{16} și T_{10} (scăderi nesemnificative).

Aciditatea liberă este scăzută cu valori cuprinse între 16,03—89,03% cu excepția animalelor care au fost tratate cu T_{10} (crește 55%) și T_{16} (crește 60,30%).

Aciditatea totală de asemenea este diminuată cu excepția animalelor tratate cu T_{16} (crește cu 21,20%).

Cele mai active inhibitoare ale secreției gastrice au fost T_{15} și urofortul (tabelul V).

Tabelul V

Substanța	*Doza mg/kilocorp i.m.*	*Conținutul gastric mediu ml/100 g*	*Aciditate gastrică 7 h*			
			Aciditate liberă		*Aciditate totală*	
			mEq/l	*E%*	*mEq/l*	*E%*
—	—	5,58	9,86	—	71,64	—
T_{14}	25	3,20	8,42	−16,03	46,06	−35,70
T_{16}	25	5,77	16,30	+60,3	86,83	+21,20
T_9	25	4,50	6,83	−31,70	53,50	−25,33
T_{10}	25	4,86	15,50	+55	63,40	−11,50
T_{15}	25	2,56	1,09	−89,03	20,47	−71,43
T_{11}	25	4,35	7,18	−28,23	42,40	−40,22
T_7	25	3,90	6,46	−35,40	44,70	−37,60
Urofort	25	2,56	3,92	− 3,92	23,40	−67,35

DISCUȚII

Derivații de triazină studiați se diferențiază între ei prin radicalii grefați pe inelul aromatic. Cei mai activi în testările noastre au fost compușii cu o grupare etoxi în pozițiile orto (T_{11}) sau para (T_7).

Substanțele respective au produs scăderi semnificative ale conținutului gastric și ale acidității sucului gastric. Ele au fost urmate de substanța T_{16} (radical — OCH_3 în poziția orto) care a redus aciditatea gastrică după 2 și 4 ore și a fost mai puțin activă după 7 ore. Aceasta s-ar putea datora și unei rapide biotransformări în organismul animalelor, ceea ce a condus la eliminarea ei într-un timp mai scurt.

Compușii cu radicalul —OH în poziția para sau cu 2 radicali $—CH_3$ în pozițiile 2,6 au fost cei mai puțin activi.

Prezența radicalului etil favorizează apariția efectului inhibitor asupra funcției secretorii gastrice în comparație cu radicalul metil, sau urofortul, care nu prezintă nici un substituient pe inelul aromatic.

CONCLUZII

S-au testat 7 noi derivați de triazină, alături de urofort, pentru stabilirea influenței lor asupra unor constante biochimice.

1. Colesterolemia este scăzută la animalele tratate cu T_{15}, T_7 și T_{14}.
2. Glicemia este scăzută de toți compușii, cu excepția urofortului.
3. Natremia și kalemia sînt moderat diminuate de T_9.
4. Aciditatea gastrică este diminuată de substanțele T_{11}, T_7, urofort și T_{16}.

BIBLIOGRAFIE

1. DOBRESCU D. — Farmacoterapie, Ed. Medicală, Bucureşti, 1981.
2. * * * Brevet Austriac, 1959, nr. 206, 442.
3. TĂTARU A., CRISTEA E., NEGOŞANU G., GRUESCU F. — Farmacia (Buc.), 1979, 27, 2, 117.
4. DOBRESCU D., CRISTEA E., MURGU L., CRISTEA A. — Farmacodinamie, Lucrări practice, Litografia I.M.F., Bucureşti, 1978.
5. MANTA I., CUCUIANU M., BENGA G., HODÎRNĂU A. — Metode biochimice în laboratorul clinic, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976.
6. MITRICĂ-KANDI NATALIA — Laboratorul clinic, Ed. Medicală, Bucureşti, 1981.
7. * * * — Metode curente pentru analize de laborator clinic, Ed. Medicală, Bucureşti, 1982.

Articol intrat în redacţie la 8.IV.1986

Indicele de clasificare : 547.873:615.778.296—092.259

SUMMARY

Şt. Tămăşdan, Elena Cristea, Denisa Mihele, Ana Tătaru — MODIFICATION OF SOME BIOCHEMICAL CONSTANTS UNDER THE INFLUENCE OF NEW DERIVATIVES OF TRIAZINE. NOTE I

Seven new triazine derivatives were tested, besides urofort, with a view to establisch their. effects on blood cholesterol, blood glucose, and blood sodium and potassium concentrations, as well as on the gastric acidity in rats. All the compounds induced moderate reduction of blood glucose, excepting urofort. Serum cholesterol was lowered in animals treated with T_{15}, T_7, and T_{14}, and serum electrolytes (sodium and potassium) were moderately lowered by T_9. These compounds also decreased gastric acidity. The most active in this connection were T_{11}, T_7, urofort, and T_{16}.

РЕЗЮМЕ

Шт. Тэмэщдан, Елена Кристя, Дениза Михеле, Анна Тэтару — ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ КОНСТАНТ ПОД ВЛИЯНИЕМ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИАЗИНА. ЗАМЕТКА I

Проверялись 7 новых производных триазина, наряду с препаратом Урофорт, в целях установления их действия на холестеринемию, на гликемию, на натремию, на калиемию и на кислотность желудочного сока у белых крыс.

Все эти соединения умеренно снизили гликемию, за исключением Урофорта. Общий холестерол сыворотки крови был понижен у животных получивших T_{15}, T_7 и T_{14}, а сыворочные электролиты /Na , K / снижены умеренно под влиянием T_9. Все эти вещества понижают и кислотность желудочного сока; наиболее активными являются: T_{11}, T_7, Урофорт и T_{16}.

Cercetări în clasa tiazolidinelor

Nota II

V. Zota, Elena Grigorescu, Paraschiva Brînză, Gabriela Popa

Laboratorul de Chimie Farmaceutică,

Facultatea de Farmacie, București

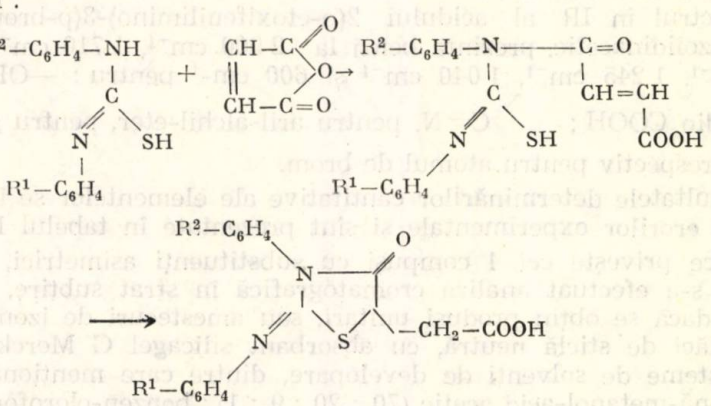
REZUMAT *Au fost sintetizați compuși noi din seria acidului 2-arilimino-4-ceto-5-tiazolidin-acetic, prin ciclocondensarea derivatelor tioureei, cu anhidridă maleică.*

Thiazolum
Cromatografie în straturi subțiri

Pornind de la unele date din literatură care arată că introducerea grupei carboximetil pe nuclee aromatice sau heterociclice hexagonale conduce la obținerea de compuși nesteroidici cu acțiune antiinflamatoare (Voltaren, Indometacin, Acid metiazinic), în lucrări anterioare am arătat că aceeași grupă prezentă pe nucleul tiazolidinic, induce aceleași efecte (1). Pe de altă parte, unii derivați ai acidului 4-ceto-5-tiazolidin-acetic manifestă o acțiune tuberculostatică marcată (3, 4).

Extinzînd cercetările, ne-am propus sinteza unor noi derivați ai acidului 4-ceto-5-tiazolidin-acetic, cu acțiune antiinflamatoare mai intensă care să permită stabilirea unor noi relații între structura chimică și activitatea farmacodinamică.

Pentru prepararea derivaților acidului tiazolidin-acetic, conform lucrărilor lui Trivedi și colab., am aplicat reacția de acilare a derivaților difeniltioureei cu anhidridă maleică, urmată de ciclizarea derivaților acilați :



în care $R^1 = R^2 = -CH_3$ (p); $-OC_4H_9$ n (p); $-OC_5H_{11}$ (izo) (p); $R^1 = -OC_2H_5$; $R^2 = Br$; $R^1 = -OC_2H_5$; $R^2 = Cl$; $R^1 = -CCH_3$; $R^2 = -COOC_2H_5$; $R^1 = -OC_2H_5$; $R^2 = -COOC_2H_5$

Atunci cînd la ciclocondensare se folosesc derivați ai tioureei, asimetric substituită, se pune problema orientării celor doi radicali R^1 și R^2 ai derivatului tioureei pe nucleul tiazolidinic.

În legătură cu această orientare L. Dashen și colab. (2) arată că la sinteza tiazolidinelor prin tratarea tioureelor asimetric substituite cu dibrometan, radicalul acid pozitiv se plasează în poziția 2 a ciclului tiazolidinic, iar cel negativ în poziția 3. J. P. Trivedi și colab. (6), lucrînd cu derivați ai tioureei substituiți cu radicali mult diferiți din punct de vedere al electronegativității (N-fenil-N'-benzil-tiouree) au constatat după degradarea nucleului pînă la amină și izotiocianat, pe baza reacției de diazotare și cuplare cu beta naftolul în soluție alcalină, că radicalul benzil apare în compusul finit, în poziția 2-a a nucleului, iar radicalul fenil, în poziția 3. Pe baza acestor date, am presupus că la cei 4 compuși preparați de noi, radicalul aril substituit cu radical alocoxil, se află în poziția 2 a nucleului tiazolidinic, iar radicalul aril, cu substituenți puternic electronegativi (X, carbetoxi) în poziția 3.

Metoda de ciclocondensare folosită de J. P. Trivedi și colab. (6) folosește metil-etil-cetona drept mediu de reacție și refluxare între 15—18 ore. Noi am efectuat ciclocondensarea în mediu de acetonă anhidră, luînd în lucru cantități echimoleculare de derivat de tiouree și anhidridă maleică. Timpul de refluxare a fost redus ; între 4—12 ore.

Derivații acidului 2-fenilamino-3-fenil-4-tiazolidin-acetic sînt substanțe cristaline, insolubile în apă ; solubile în solvenți organici și în amestec hidroalcoolic la cald, foarte solubile la rece în DMSO. Randamentele sînt cuprinse între 40 și 90%.

Confirmarea structurii a fost făcută prin analiza spectrofotometrică în IR și determinarea cantitativă a elementelor.

În spectrul în IR efectuat pe substanța solidă prin tehnica pastilării cu bromură de potasiu, la un aparat Spekord IR 75 asupra acidului 2(p-tolilimino)-3(p-tolil)-4-ceto-tiazolidinacetic, apar următoarele benzi : la 2 900 cm^{-1} banda, datorită grupei —OH din carboxilul asociat, iar la 1 710 cm^{-1}, datorită grupei C=O din aceeași grupă, Imina $\diagup$C=N este pusă în evidență prin banda de la 1 600 cm^{-1} ; grupa cetonică de la C^5 la 1 040 cm^{-1}.

Spectrul în IR al acidului 2(p-etoxifenilimino)-3(p-bromfenil)-4-ceto-5-tiazolidinacetic, prezintă benzi la : 2 900 cm^{-1}, 1 710 cm^{-1}, 1 600—1 620 cm^{-1}, 1 245 cm^{-1}, 1 040 cm^{-1} și 600 cm^{-1} pentru : —OH asociat, $\diagup$C=O din COOH ; $\diagup$C=N, pentru aril-alchil-eter, pentru grupa cetonică și respectiv pentru atomul de brom.

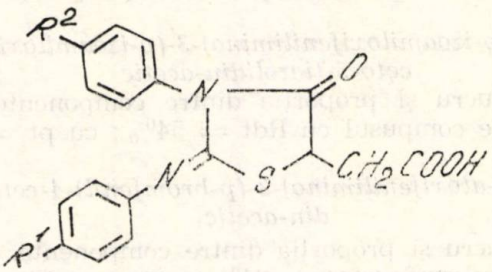
Rezultatele determinărilor cantitative ale elementelor se încadrează în limita erorilor experimentale și sînt prezentate în tabelul I.

În ce privește cei 4 compuși cu substituenți asimetrici, compușii IV—VII, s-a efectuat analiza cromatografică în strat subțire, pentru a constata dacă se obțin produși unitari, sau amestecuri de izomeri. S-au folosit plăci de sticlă neutră, cu absorbant silicagel G Merck în mai multe sisteme de solvenți de developare, dintre care menționăm : benzen-acetonă-metanol-acid acetic (70 : 20 : 9 : 1) ; benzen-cloroform (9 : 1), toluen-acetat de etil-acid formic (100 : 80 : 20) ; butanol-acid acetic-apă (4 : 1: 5), iar ca revelatori s-au utilizat cu bune rezultate p-dimetilaminobenzaldehidă la 70°C și reactiv K[Bi 14]. S-au cromatografiat cei 4 produși alături de derivații de tiouree care au servit la ciclocondensare și

de anhidridă maleică. În toate sistemele de solvenți, s-au evidențiat spoturile compușilor IV—VII de culoare galbenă cu reactiv Ehrlich și roșii-brune cu reactiv Dragendorff. Faptul că spoturile corespunzătoare compușilor nu au fost dedublate, în nici unul din sistemele de solvenți utilizați, ne îndreptățește să afirmăm că s-a format numai cîte un izomer de poziție și ținînd seama de indicațiile din literatură (2), am atribuit compușilor respectivi formulele menționate în tabelul I.

Tabelul I

Acizi 2-fenil-imino-3-fenil-4-ceto-tiazolidin-5-acetici



Nr. crt.	R^1	R^2	Formulă brută / masă molec.	Analiza cantitativă C	H	N	S	X
I	$-CH_3$(p)	$-CH_3$(p)	$C_{19}H_{18}N_2SO_3$	64,40	5,12	7,96	—	—
			354,416	64,81	5,40	7,88	—	—
II n	$-OC_4H_9$(p)	n $-OC_4H_9$(p)	$C_{25}H_{30}N_2O_5S$	63,80	6,43	5,96	—	—
			470,579	64,05	6,69	6,18	—	—
III izo	$-OC_5H_{11}$(p)	izo $-OC_5H_{11}$(p)	$C_{27}H_{34}N_2O_5S$	65,03	6,87	5,62	—	—
			498,625	65,12	7,06	5,85	—	—
IV	$-OC_2H_5$(p)	Br(p)	$C_{19}H_{17}N_2O_4SBr$	50,80	3,82	6,24	—	—
			449,332	51,42	4,24	6,80	—	—
V	$-OC_2H_5$(p)	Cl(p)	$C_{19}H_{17}N_2O_4SCl$	56,36	4,23	6,92	—	8,76
			404,873	56,90	4,48	6,83	—	8,18
VI	$-OCH_3$(p)	$-COOC_2H_5$(p)	$C_{21}H_{20}N_2O_6S$	58,90	4,75	6,54	7,48	—
			428,456	59,25	5,02	6,80	7,39	—
VII	$-OC_2H_5$(p)	$-COOC_2H_5$(p)	$C_{22}H_{22}N_2O_6S$	59,71	5,93	6,32	7,25	—
			442,486	60,02	5,10	5,99	7,61	—

PARTEA EXPERIMENTALĂ

I. *Acid 2(p-tolil-imino)-3-(p-tolil)-4-ceto-5-tiozolidin-acetic*

Peste o soluție de 5 g (0,02 moli) p.p.-ditolil-tiouree în 100 ml acetonă anhidră, la temperatura camerei și sub agitare, se adaugă o soluție de 2 g (0,02 moli) anhidridă maleică. Se încălzește amestecul la reflux 6 ore și după concentrarea soluției acetonice, se obține un pro-

dus cristalin, gălbui, din care prin recristalizare din etanol-apă 3 : 1, rezultă 5 g compus (Rdt = 72,4%) cu pt = 124° ; solubil la cald în etanol, greu solubil în apă, parțial solubil în soluție concentrată de hidrogenocarbonat de sodiu, ușor solubil în DMSO.

II. *Acid 2(p-n-butoxifenilimino)-3-(p-n-butoxifenil)-4-ceto-5-tiazolidin-acetic*

Tehnica de lucru și proporția între reactivi, similară compusului I. Se obține un randament de 63,5% pt = 180° (CH_3OH).

III. *Acid 2(p-izoamiloxifenilimino)-3-(p-izoamiloxi-fenil)-4-ceto-5-tiazolidin-acetic*

Tehnica de lucru și proporția dintre componente, similare compusului I. Se obține compusul cu Rdt = 54% ; cu pt = 185° (CH_3OH).

IV. *Acid 2-(p-atoxifenilimino)-3-(p-bromfenil)-4-ceto-5-tiazolidin-acetic*

Tehnica de lucru și proporția dintre componente, similare compusului I. Se obține un randament de 64% compus cu pt = 188° (CH_3OH).

V. *Acid 2-(p-etoxifenilimino)-3-(p-clorfenil)-4-ceto-5-tiazolidin-acetic*

În condiții similare, s-a obținut un Rdt = 45,4 cu pt = 180° (C_2H_5OH).

VI. *Acid 2(p-metoxi-fenilimino)-3-(p-carbetoxifenil)-4-ceto-5-tiazolidin-acetic*

Se obține un Rdt de 50% substanță ; pt = 217° (CH_3OH).

VII. — *Acid 2(p-etoxi-fenilimino-3-(p-carbetoxifenil)-4-ceto-5-tiazolidin-acetic*

Ciclocondensarea s-a făcut cu Rdt = 54,5% ; pt = 220° (C_2H_5OH).

CONCLUZII

În continuarea lucrărilor noastre, aplicînd reacția de ciclocondensare a unor derivați simetrici și asimetrici ai tioureei cu anhidrida maleică, am obținut derivați ai acidului tiazolidin-acetic. Am stabilit condițiile de reacție și randamentele.

Structura noilor compuși, dedusă prin sinteză, a fost verificată prin determinări cantitative și confirmată prin analiza spectrală în IR. Eventuala formare a unor izomeri de poziție a fost verificată prin analiză cromatografică în strat subțire.

BIBLIOGRAFIE

1. CRISTEA E. și colab. — Rezumate, Sesiunea științifică, București, 1980, 206.
2. DASHEN L. și colab. — *Trans. Kansas. Acad. Sci.*, 1937, *40*, 103.
3. GRIGORESCU E. — Teză de doctorat, 1976.
4. MAYER R. L. și colab. — *Tuberc. Pulmonary Dis.*, 1958, 77, 694.
5. STAZINGER G. — *Arzneimittel Forsch.*, 1977, *27*, 12 B, 463.
6. TRIVEDI J. P. și colab. — *J. Indian chem. Soc.*, 1966, *43*, 4, 265.

Articol intrat în redacție la 30.VII.1986

Indicele de clasificare : 547.789:545.844

Influența tamponării și a microcapsulării acidului acetilsalicilic în comprimate asupra vitezei de dizolvare și a biodisponibilității

E. Curea, I. Ban, E. S. Leucuța, M. Bojiță, E. Cardan

Facultatea de Farmacie, Cluj-Napoca

Clinica Chirurgicală I, Cluj-Napoca

REZUMAT

S-a cercetat biodisponibilitatea unor comprimate cu acid acetilsalicilic formulată fie în prezența unei substanțe tampon carbonatul de calciu, fie sub formă de microcapsule cu înveliș de etilceluloză. S-a administrat în fiecare caz cîte 1 g acid acetilsalicilic la voluntari sănătoși. Determinarea cantitativă a substanței medicamentoase plasmatice s-a făcut sub formă de salicilat. S-a constatat că în cazul comprimatelor cu microcapsule constanta vitezei de absorbție, nivelul concentrațiilor maxime și timpul maximului sînt mai mici decît după comprimatele tamponate, dar că biodisponibilitatea este similară.

Viteza de dizolvare a acidului acetilsalicilic din comprimatele tamponate este mare și conformă cu o cinetică de ordinul întîi. Acidul acetilsalicilic difuzează prin filmul polimerului de învelire a particulelor conform cineticii difuziei dintr-o matriță. Rezultatele sugerează posibilitatea obținerii unui efect farmacologic similar cu cele două preparate, cu avantajul unei cedări prelungite și a unor concentrații plasmatice prelungite în cazul comprimatelor cu microcapsule sau cu avantajul unui efect mai rapid, mai intens și posibil datorat și de cantități mici de substanță medicamentoasă nemetabolizată, în cazul comprimatelor tamponate.

Acidum acetylsalicylicum
Biodisponibilitate

Acidul acetilsalicilic se utilizează de mult timp ca analgezic și antiinflamator, iar în prezent este cercetat și utilizat și ca antiagregant plachetar (1—3). Acțiunea farmacologică este strîns legată de concentrațiile medicamentoase plasmatice, iar domeniul concentrațiilor terapeutice fiind îngust, modificările dozei pot avea un efect pronunțat asupra nivelelor terapeutice.

În organism, acidul acetilsalicilic este rapid hidrolizat ca acid salicilic de către esteraze, iar timpul de înjumătățire biologică a acidului acetilsalicilic nehidrolizat este de 15—20 minute (4, 5). Nu se cunoaște concentrația plasmatică necesară analgeziei (6). Se admite că acidul acetilsalicilic chiar în concentrații mici este un antiagregant plachetar, în timp ce concentrații mari de salicilat sînt fără acest efect (7, 8).

Pe de altă parte, se cunoaște acțiunea iritantă gastrointestinală a preparatelor cu acid acetilsalicilic, care se datorează mai ales unui efect local asupra mucoasei gastrice (9). Acest efect poate fi micșorat prin administrare concomitentă de antiacide (10). Utilizarea unor filme din polimeri insolubili în jurul particulelor substanțelor medicamentoase poate asigura o cedare controlată (11, 12).

În lucrări anterioare s-a studiat influența unor aditivi de tamponare asupra dizolvării acidului acetilsalicilic (13), precum și asupra biodisponibilității (14). Acoperirea cu etilceluloză a unor microsfere de albumină a determinat o cedare prelungită a metronidazolului din microcapsulele preparate cu înveliș de etilceluloză (15).

În această lucrare s-a cercetat biodisponibilitatea salicilatului din comprimate cu acid acetilsalicilic microcapsulat, în comparație cu un sortiment tamponat, după administrarea unor doze unice pe cale orală la subiecți umani (16). Utilizarea de microcapsule de etilceluloză cu acid acetilsalicilic ar putea micșora efectul iritant local, prin cedarea unor cantități mai mici de substanță medicamentoasă la nivelul mucoasei gastrice, dar utilizarea clinică a acestor comprimate este dependentă de biodisponibilitatea acidului acetilsalicilic. Pentru comparație, s-au cercetat comprimate cu cedare rapidă, conținînd carbonat de calciu ca substanță de tamponare.

MATERIAL ȘI METODE

Preparatele farmaceutice. S-au folosit comprimate. Aspirină calcică cu 0,50 g acid acetilsalicilic, tamponat cu carbonat de calciu în cantitate stoichiometrică, preparat de Laboratorul de microproducție al Facultății de Farmacie, Cluj-Napoca. Comprimatele cu acid acetilsalicilic microcapsulat au fost preparate pe baza unei formulări experimentale de comprimate de mestecat, conținînd particulele substanței medicamentoase cu dimensiuni mai mici de 60 μm, acoperite cu un film de etilceluloză, alături de excipienți de comprimare : amidon de porumb, gelatină, și talc, la fel ca și în comprimatele de Aspirină calcică.

Viteza de dizolvare in vitro. S-a folosit dispozitivul ERWEKA ZT 2, utilizînd ca mediu de dizolvare o soluție de acid clorhidric 0,1 N, la 37°C. S-au prelevat periodic probe care s-au filtrat, diluat și determinat cantitativ prin spectrofotometrie în U.V. la 276 nm. Cantitățile dizolvate s-au exprimat procentual și s-au alcătuit curbe de dizolvare. S-au calculat constantele vitezei de dizolvare conform unei cinetici de ordinul întîi, folosind regresia liniară prin metoda celor mai mici pătrate, cu ajutorul unui calculator numeric Robotron KSR-4100 (R.D.G.). În cazul comprimatelor cu microcapsule de acid acetilsalicilic cu înveliș de etilceluloză, pe lîngă cinetica de ordinul întîi s-a cercetat eliberarea substanței medicamentoase prin difuzie, cantitatea cedată, q, în acest caz fiind o funcție de rădăcina pătrată a timpului. Astfel, funcția $q = f(t^{1/2})$ trebuie să fie o linie dreaptă.

Protocolul studiului biodisponibilității la voluntari. În studiu au participat cinci voluntari, în vîrstă de 29—57 ani, cu greutate corporală între 65—78 kg, fără afecțiuni hepatice, renale, cardiace, sau gastrointestinale. Subiecții nu au primit altă medicație cu 2 săptămîni înaintea studiului și nici pe durata acestuia. Fiecare subiect a primit fiecare din cele două formulări cercetate, la diferență de o săptămînă. În ambele cazuri, doza administrată a fost de 1 g acid acetilsalicilic (cîte

2 comprimate luate împreună), din fiecare formulare. Administrarea dozelor s-a făcut dimineața pe stomacul gol, cu 150 ml apă. S-au recoltat probe de sînge, s-a separat serul, care s-a păstrat la congelator pînă la analiză.

Determinarea concentrațiilor salicilatului în ser s-a făcut după o metodă descrisă în literatură (17). La 3 ml ser s-au adăugat 2 ml acid clorhidric concentrat în fiole care s-au închis și supus hidrolizei la 100°, timp de 16 ore, după care s-au adăugat 0,5 ml acid clorhidric 6 N și 6 ml cloroform. După îndepărtarea stratului apos, s-au măsurat 4 ml strat cloroformic, la care s-au adăugat 6 ml soluție nitrat feric (reactiv Trinder) și s-a citit extincția la 540 nm. S-a folosit o curbă etalon la care extincțiile s-au obținut în probe obținute dintr-o soluție de salicilat de sodiu tratată la fel.

Calculul farmacocinetic și statistic. Concentrațiile salicilatului plasmatic au fost descrise corespunzător cu ecuația caracteristică modelului farmacocinetic deschis mono compartimentat (19). S-au calculat constantele farmacocinetice cu ajutorul unui calculator numeric Robotron KSR-4100 (R.D.G.). Calcularea intervalului de încredere și a semnificației statistice a diferențelor între valorile medii s-au făcut cu testul t al lui Student, pentru un prag de probabilitate de 90%.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În tabelul I sînt redate valorile medii ale concentrațiilor plasmatice ale salicilatului, după administrarea la voluntari a unei doze unice de 1 g acid acetilsalicilic sub formă de comprimate tamponate și comprimate cu microcapsule, iar în fig. 1 sînt curbele concentrațiilor medii

Tabelul I

Valorile medii (±D.S.) ale concentrațiilor plasmatice ale salicilatului după o doză unică de 1 g acid acetilsalicilic la voluntari, sub formă de comprimate

Timpul (ore)	*Concentrația plasmatică (μg/ml)*	
	Comprimate tamponate	*Comprimate cu microcapsule*
0,5	22,4 (5,3)	—
1	69,8 (8,2)	5,6 (9)
2	75 (7,5)	10,25 (8,7)
3	66,2 (8,0)	26,6 (7,1)
4	59,4 (9,5)	44,2 (9,9)
5	51,8 (9,8)	51,8 (8,6)
6	44 (10,7)	52 (6,4)
8	36 (7,7)	43,6 (7,6)
10	23,2 (10)	36 (6,2)
12	16,8 (5,2)	29,6 (6,6)
24	3,4 (1,4)	4 (1,3)

obținute experimental. În tabelul II sînt redați parametrii biofarmaceutici ai salicilatului, după o doză unică de 1 g acid acetilsalicilic la voluntari sub forma comprimatelor tamponate, iar în tabelul III sînt redați parametrii biofarmaceutici ai salicilatului, după o doză unică de 1 g acid acetilsalicilic la voluntari sub forma comprimate cu particule microcapsulate cu etilceluloză.

Se constată că după administrarea comprimatelor cu microcapsule de acid acetilsalicilic nivelul concentrațiilor maxime medicamentoase plasmatice este mai mic (52 μg/ml) și apare mai tîrziu (6 ore), în comparație cu cel obținut după comprimatele tamponate (75 μg/ml, după 2

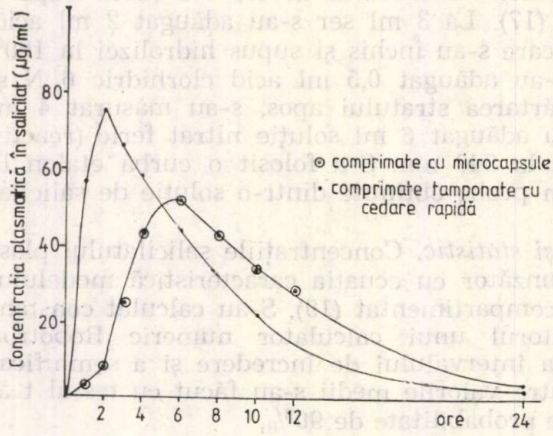


Fig. 1. — Valorile medii ale concentrațiilor serice de salicilat după administrarea la subiecți umani a unor doze unice de 1 g acid acetilsalicilic tamponat și microcapsulat.

Tabelul II

Parametrii biofarmaceutici ai salicilatului după administrarea unei doze unice de 1 g acid acetilsalicilic oral la subiecți umani, sub formă de comprimate tamponate

Subiecții	*Parametrii biofarmaceutici*					
	C_0 (μg/ml)	t_{lat} (*ore*)	k_a (h^{-1})	k_{el} (h^{-1})	$t_{1/2}$ (*ore*)	ASC_0^{∞} $\mu g \cdot ml^{-1} \cdot h$
1	110	0,38	1,587	0,137	5,03	717
2	115	0,22	1,685	0,133	5,19	817
3	80	0	0,772	0,152	4,55	438
4	85	0,45	4,428	0,158	4,38	543
5	95	0,42	3,033	0,162	4,27	566
$\bar{x}$ (±D.S.)	97 (10,4)	0,29 (0,12)	2,301 (0,98)	0,148 (0,009)	4,68 (0,27)	616 (102)

Tabelul III

Parametrii biofarmaceutici ai salicilatului după administrarea unei doze unice de 1 g acid acetilsalicilic oral la subiecți umani, sub formă de comprimate cu particule microcapsulate, cu etilceluloză

Subiecții	*Parametrii biofarmaceutici*					
	C_0 (μg/ml)	t_{lat} (*ore*)	k_a (h^{-1})	k_{el} (h^{-1})	$t_{1/2}$ (*ore*)	ASC_0^{∞} ($\mu g \cdot ml^{-1} h$)
1	110	1,8	0,531	0,138	4,99	596
2	125	1,44	0,496	0,165	4,20	519
3	130	1,32	0,523	0,144	4,82	672
4	105	2,72	0,563	0,184	3,76	323
5	125	2,16	0,591	0,143	4,84	632
$\bar{x}$ (±D.S.)	119 (7,43)	1,888 (0,39)	0,541 (0,026)	0,155 (0,013)	4,52 (0,35)	548 (95)

ore). Absorbția din comprimatele cu microcapsule are loc doar după trecerea unei perioade de latență (1, 8 ore). Constanta vitezei de absorbție, ka, este 0,541 h^{-1} după comprimatele cu microcapsule, în timp ce din cele tamponate este 2,301 h^{-1}. Timpul de înjumătățire $t_{1/2}$ al salicilatului este asemănător în ambele cazuri, 4,52 ore și 4,68 ore, și concordă cu valorile obținute de alți autori (19—21). Aria de sub curba concentrațiilor plasmatice, după aceeași doză de acid acetilsalicilic, în cele două tipuri de comprimate a avut valori care nu diferă semnificativ. Biodisponibilitatea salicilatului din comprimatele cu microcapsule față de cele tamponate este 88%, diferența fiind nesemnificativă clinic. Deoarece maximul concentrațiilor plasmatice a salicilatului după administrarea comprimatelor cu microcapsule apare mai tîrziu, după traversarea stomacului și e mai mic decît din comprimatele tamponate, este de așteptat ca efectul iritant gastric să fie redus. Acțiunea analgezică sau antiinflamatoare este însă de așteptat să fie asemănătoare după ambele preparate. Întrucît metoda de determinare cantitativă dozează totalul de salicilat, și nu face o diferență între acidul acetilsalicilic și acidul salicilic, este dificil de apreciat nivelul posibil al substanței medicamentoase nemetabolizate.

În alte lucrări, folosind cromatografia de lichide cu înaltă presiune, s-au constatat nivele foarte reduse de acid acetilsalicilic ca atare în plasmă după o doză unică de comprimate efervescente sau slab tamponate, cu un maxim de aproximativ 14 μg/ml după 0,5 ore (21). Din acest motiv, se poate afirma că în cazul cercetării de față, comprimatele tamponate sînt de preferat atunci cînd este necesară o acțiune analgezică sau antiagregantă, în timp ce comprimatele cu microcapsule sînt mai corespunzătoare pentru a menține concentrații mai constante de salicilat în plasmă. În acest sens, un indiciu este dat de comportamentul *in vitro* al comprimatelor cercetate.

În fig. 2 sînt redate curbele de dizolvare *in vitro* a acidului acetilsalicilic din comprimatele tamponate și comprimatele cu microcapsule. Se constată o dizolvare rapidă în cazul comprimatelor tamponate, în timp ce în cazul comprimatelor cu microcapsule dizolvarea are loc cu o viteză mică, dar aproximativ constantă. Reprezentarea cantității di-

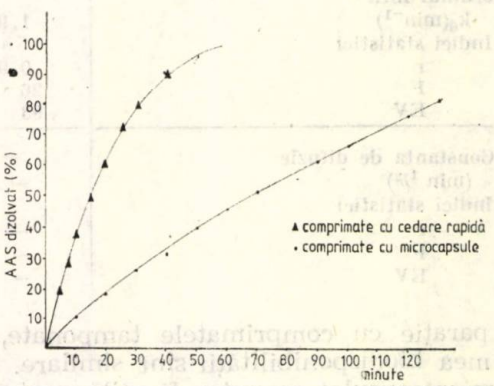


Fig. 2. — Curbele de dizolvare in vitro a acidului acetilsalicilic din comprimate tamponate cu cedare rapidă și din comprimate cu microcapsule.

zolvate în funcție de rădăcina pătrată a timpului (fig. 3) arată o dependență liniară în cazul comprimatelor cu microcapsule dovedind existența difuziei prin filmul de polimer ce înconjoară particulele, și o abatere de la liniaritate în cazul comprimatelor tamponate.

În tabelul IV sînt redate constantele de dizolvare de ordinul întîi pentru acidul acetilsalicilic tamponat și microcapsulat, precum și constanta de difuzie a acidului acetilsalicilic din particulele microcapsulate. Se observă că indicii de corelare sînt mai buni în cazul difuziei acidului acetilsalicilic din particulele microcapsulate.

În concluzie, administrarea unor doze unice de acid acetilsalicilic sub formă de comprimate cu microcapsule conduce la un nivel maxim plasmatic medicamentos mai coborît și care apare mai tîrziu în com-

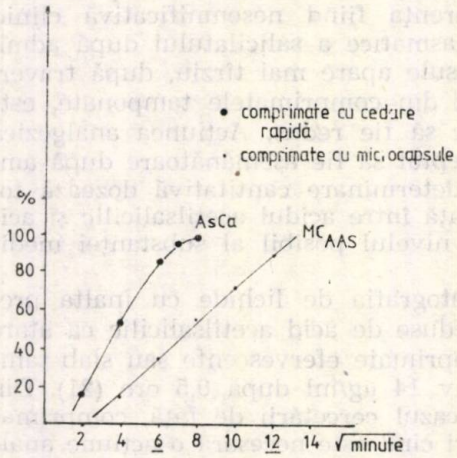


Fig. 3. — Cedarea *in vitro* a acidului acetilsalicilic din comprimate tamponate și comprimate cu microcapsule; cantitatea procentuală dizolvată în funcție de rădăcina pătrată a timpului.

Tabelul IV

Constantele vitezei de dizolvare *in vitro* ale acidului acetilsalicilic din comprimate tamponate și cu microcapsule

Parametrul cinetic	*Comprimate tamponate*	*Comprimate cu particule microcapsulate*
Constanta de dizolvare de ordinul întîi $k_d(min^{-1})$	1,952 (±0,44)	0,61 (±0,0698)
Indici statistici		
r	0,9755	0,993
F	26	178
EV	93	98
Constanta de difuzie (min $^{1/2}$)	—	9,06 (±0,135)
Indici statistici		
r	—	0,9999
F	—	2986
EV	—	99,9

parație cu comprimatele tamponate, dar viteza de eliminare și mărimea biodisponibilității sînt similare. Formularea cu acidul acetilsalicilic microcapsulat ar putea fi utilă pentru o acțiune prelungită antiinflamatoare, în timp ce formularea cu adaos de tampon la acidul acetilsalicilic ar avea indicații în cazurile în care efectul ar depinde de concentrații mai ridicate de salicilat și posibil chiar de mici cantități de acid acetilsalicilic.

Caracterizarea reologică a unor dermoemulsii de tip U/A cu lactobionat de eritromicină, utilizate în tratamentul piodermitelor

Nota II

Iuliana Popovici, Eliza Gafiţanu, Steriana Braha, Florica Dima, Maria Vasilescu

Facultatea de Farmacie, I.M.F., Iaşi

REZUMAT

În cercetarea întreprinsă s-a urmărit caracterizarea reologică a unor dermoemulsii tip U/A indicate în tratamentul piodermitelor, infecţii locale stafilococice şi streptococice ca: acnee flegmatoasă, prurigo, impetigo sau impetiginizare a altor afecţiuni (scabie).

Dermopreparatele conţin: 2% lactobionat de eritromicină, 10% tinctură de Chalendula officinalis, *20—40% parafină lichidă, 4,4% stearină, 1,55—2,66% tristanolamină sau amestec de 2—4% span 60 cu 3—6%* tween *60 şi soluţie conservantă la 100 g.*

Determinările reologice şi de vîscozitate dinamică s-au realizat cu ajutorul viscozimetrului rotaţional Rheotest-2, la 20°C. S-au trasat reograme care reflectă variaţia tensiunii de forfecare şi dinamica viscozităţii dermoemulsiilor, la diferite gradiente de viteză.

Dermoemulsiile tip U/A, studiate prezintă o curgere nenewtoniană, de tipul corpurilor tixotrope, iar vîscozitatea are valori cuprinse între 108,66—217,33 cP, ceea ce atestă o bună capacitate de întindere, adezivitate şi stabilitate.

Antibiotice
Emulsii
Piodermită
Tratament

Într-o lucrare anterioară (1) s-au formulat şi studiat o serie de dermoemulsii tip U/A cu lactobionat de eritromicină, indicate în tratamentul piodermitelor, infecţiilor locale stafilococice şi streptococice ca : acnee flegmatoasă, prurigo, impetigo sau impetiginizare a altor afecţiuni (scabie). Dermopreparatele conţin : 2% lactobionat de eritromicină (formulele 2 şi 3), 10% tinctură de *Calendula officinalis* (formulele 3, 4 şi 6). 20—40% parafină lichidă (formulele 1—6), 4,4% stearină (formulele 1—4), 1,55—2,66% trietanolamină (formulele 1—4) sau amestec de 2—4% span 60 cu 3—6% tween 60 (formulele 5, 6) şi soluţie conservantă la 100 g (formulele 2 şi 3 conţin 2 g% alcool pentru dizolvarea rapidă a antibioticului).

Pentru dermopreparatele 2 şi 3 notate convenţional cu denumirea Eritroacnol şi Eritroacnol C s-a obţinut brevet de invenţie (2).

Emulsiile au fost studiate sub aspectul determinărilor fizice de : pH, conductibilitate electrică, densitate, distribuția mărimii particulelor după mărime, testări microbiologice, clinice, cît și al toleranței la nivelul zonei oculare.

Pentru aprecierea proprietăților dermopreparatelor realizate privind capacitatea de întindere, tixotropie și adezivitate s-au efectuat determinări de reologie și vîscozitate. Aceste caracteristici au influență asupra stabilității emulsiilor cît și a penetrației prin piele.

Determinările reologice permit măsurarea vîscozității dinamice, a timpului sau a forței de curgere a emulsiilor. Vîscozitatea emulsiei se poate modifica nu numai dependent de temperatură, ci și de forța de forfecare aplicată, cît și de durata timpului de acțiune (3—5).

Vîscozitatea de structură, respectiv curbele de curgere s-au determinat pe probe de emulsii proaspete, în cantitate de 30 ml, cu ajutorul vîscozimetrului rotațional Rheotest-2, la temperatura de 20°C. Cu ajutorul constantelor reovîscozimetrului s-au obținut : tensiunea de forfecare τ și vîscozitatea η, la diferite gradiente de viteză D_r.

S-a aplicat următoarea formulă de calcul :

$\eta_r = Z. \alpha$, unde Z = constanta aparatului, iar α se citește direct pe scala gradată a aparatului, după fiecare determinare (6).

Rezultatele determinărilor sînt prezentate în tabelele 1—6, pe baza cărora s-a calculat variația tensiunii de forfecare η_r, în funcție de logaritmul gradientului de viteză, la temperatura de 20°C, trasîndu-se curbele de curgere (reogramele) din figurile 1, 2 și 3.

Examinînd datele din tabele și alura curbelor de curgere se constată că adaosul unei cantități de peste 10% alcool scade gradul de tixotropie (emulsia 3 cu 12% alcool și emulsia 4 cu 10% alcool). Pe de altă parte un procent de 10% alcool (emulsia 4) conferă prag de curgere și tixotropie, comparativ cu formula 1 (emulsia fără alcool) și emulsia 2 cu numai 2% alcool. Existența unui prag de curgere demonstrează o bună stabilitate în timp a dermopreparatelor. Același fenomen se constată și la emulsiile 5 și 6, la care se utilizează un emulgator mixt : 2%, span 60—3% tween 60. La emulsia 6, prin adăugare de 10% alcool (tinctura de *Calendula)* scade tixotropia, dispărînd pragul de curgere.

Studiind dinamica vîscozității relative a emulsiilor (tabelele I, II, III, IV, V, VI și figurile 4—9) prin creșterea vitezelor de forfecare se constată o scădere a vîscozităților la valori limite staționare, pentru toate emulsiile 1—6, mai accentuată la emulsia 3.

Emulsia 3 prezintă o vîscozitate mai ridicată după ce a fost supusă tensiunilor de forfecare și ajunge la o vîscozitate de 217,33 cP, față de vîscozitatea inițială de 108,66 cP. Cu excepția formulelor 3 și 4, în cazul emulsiilor 1 și 2, după ce au fost supuse forfecării, valorile vîscozității revin la 217,33 cP. Emulsia 4 ajunge la vîscozitatea de 434 cP, iar pînă la valoarea inițială de 217,33 CP, necesită un timp de refacere a structurii, ceea ce se constată și din alura curbelor de curgere (fig. 1). Emulsia 5, datorită emulgatorului mixt span 60 — tween 60 în concentrație de 2% și respectiv 3%, prezintă o vîscozitate mare de 9 152 cP, în paralel cu un grad accentuat de tixotropie și un prag de curgere mare (fig. 3) și revine la vîscozitatea de 2 228 cP, necesitînd timp pentru refacerea structurii interne la valoarea inițială.

În cazul emulsiei 6, adăugarea tincturii de *Calendula officinalis* perturbă structura internă a acesteia (fig. 3), producînd o modificare a

Tabelul 1

Tensiunea de forfecare și viscozitatea emulsiei 1

Poz.	*DR*	*Domeniul 1*		$\tau_r = Z \cdot \alpha$		*Rmp*	$\eta = \frac{\tau/r}{Dr}$	
		$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$	$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$			
1 b	1,5	1	1	3,26	3,26	0,27	217,33	217,33
2 b	2,7	1	1	3,26	3,26	0,50	120,74	130,74
1 b	3	1,5	1	4,89	3,26	0,55	163	108,66
3 b	4,5	2	1	6,52	3,26	0,83	144,88	72,44
2 a	5,4	2,5	1	8,15	3,26	1	150,92	60,37
4 b	8,1	3	2	9,78	6,51	1,5	120,74	80,49
3 a	9	3	2	9,78	6,52	1,66	108,66	72,44
5 b	13,5	3,5	2,5	11,41	8,15	2,5	84,51	60,37
4 a	16,2	4	3	13,04	9,78	3	89,49	60,37
6 b	24,3	5	3,5	16,3	11,41	4,5	67,08	46,95
5 a	27	5,5	4	17,93	13,04	5	66,40	48,29
7 b	40,5	7,5	4	24,45	13,04	7,5	60,37	32,19
6 a	48,6	8	5	26,08	16,30	9	53,66	33,53
8 b	72,9	11	7	35,86	22,82	13,5	49,19	31,30
7 a	81	11,5	7,5	37,49	24,45	15	46,29	30,18
9 b	121,5	15	10,5	48,9	34,23	22,5	40,24	28,17
8 a	145,8	18	12,5	58,68	40,75	27	40,24	27,94
10 b	218,7	26,5	18	86,39	58,68	40,5	39,5	26,83
9 a	243	27	20	88,02	45,2	45	36,22	26,83
11 b	364,5	38,5	30	125,51	97,8	67,5	34,43	26,83
10 y	437,4	46	36,5	149,96	118,99	81	34,28	27,20
12 b	656	64	55	208,64	179,3	121,5	31,80	27,33
11 a	729	69	61	224,94	198,86	135	30,85	27,24
12 a	1312					243	26,24	
		Domeniul II						
12 a		11						

Cilindru N $Z < 3,26$ (DI); $Z = 31,3$ (DII)

Tabelul II

Tensiunea de forfecare τr și viscozitatea emulsiei 2

Poz.	*DR*	*Domeniul I*		$\tau r = Z,\ \alpha$		*Rmp*	$n = \frac{\tau r}{Dr} \cdot 100$	
		$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$					
1 b	1,5	1	1	3,26	3,26	0,27	217,33	217,33
2 b	2,7	1	1	3,26	3,26	0,50	120,74	120,74
1 a	3	1,5	1	4,89	3,26	0,55	163	108,66
3 b	4,5	2	1	6,52	3,26	0,83	144,88	72,44
2 a	5,4	2	1	6,51	3,26	1	120,74	60,37
4 b	8,1	2	1	6,52	3,26	1,5	80,49	40,24
3 a	9	2	1	6,52	3,26	1,66	72,44	36,22
5 b	13,5	2	1	6,52	3,26	2,5	48,29	24,14
4 a	16,2	2	2	6,52	6,52	3	40,24	40,24
6 b	24,3	2	2	6,52	6,52	4,5	26,83	26,83
5 a	27	2	2	6,52	6,52	5	23,14	24,14
7 b	40,5	3	2	9,78	6,52	7,5	24,18	16,09
6 a	48,6	3	3	9,78	9,78	9	20,12	20,12
8 b	72,9	3	3,5	9,78	11,41	13,5	13,41	15,65
7 a	81	4	3,5	13,04	11,41	15	16,09	14,08
9 b	121,5	5	4,5	16,3	14,67	22,5	13,41	12,07
8 a	145,8	6,5	5,5	21,19	17,93	27	14,53	12,29
10 b	218,7	9	7,5	29,34	24,45	40,5	13,41	11,17
9 a	243	10	8	32,6	26,08	45	13,41	10,73
11 b	364,5	14	11,5	45,64	37,49	67,5	12,52	10,28
10 a	437,4	16	14	52,16	45,64	81	11,92	10,43
12 b	656	21	20	68,46	65,2	121,5	10,43	9,93
11 a	729	23	22	74,98	71,72	135	10,28	9,83
12 a	1312	39		127,14		243	9,69	

Cilindru N Z = 3,26 (DI)

Tensiunea de forfecare τr și viscozitatea emulsiei 3

Poz.	DR	Domeniul I		$\tau r < Z \cdot \alpha$		Rmp	$n = \frac{\tau r}{Dr} \cdot 100$	
		$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$					
1 b	1,5	0,1	1	1,63	3,26	0,27	108,66	217,33
2 a	2,7	0,1	1	1,63	3,26	0,50	60,37	120,74
1 a	3	0,1	1	1,63	3,26	0,55	54,33	108,66
3 b	4,5	0,5	1	1,63	3,26	0,83	36,22	72,44
2 a	5,4	1	1	3,26	3,26	1	60,37	60,37
4 b	8,1	1,5	1	4,89	3,26	1,5	60,37	40,24
3 a	9	2	1	6,52	3,26	1,66	72,44	36,22
5 b	13,5	2	1,5	6,52	4,89	2,5	48,29	36,22
4 a	16,2	2	1,5	6,51	4,89	3	40,24	30,18
6 b	24,3	2	2	6,52	6,52	4,5	26,83	26,83
5 a	27	2	2	6,52	6,52	5	24,14	24,14
7 b	40,5	3	2	9,78	6,52	7,5	24,14	16,09
6 a	48,6	3,5	3	11,41	9,78	9	23,47	20,19
8 b	72,9	4	3	13,04	9,78	13,5	17,88	13,41
7 a	81	5	3	16,3	9,78	15	20,12	12,07
9 b	121,5	6	4	19,2	13,04	22,5	15,80	10,73
8 a	145,8	7,5	5,5	24,45	17,93	27	16,76	12,29
10 b	218,7	10,5	7,5	34,23	24,45	40.5	15,65	11,17
9 a	243	11,5	8,5	37,49	27,71	45	15,55	11,40
11 b	364.5	16,5	13	53,79	42,38	67,5	14,75	11,62
10 a	437,4	19,5	15	63,57	48,90	81	14,53	11,17
12 b	656	27,5	23,5	89,65	76,71	121,5	13,66	11,67
11 a	729	29,5	26	96,17	84,76	135	13,19	11,62
12 a	1312	47		153,22		243	11,67	

Cilindru N Z = 3,26 (DI)

Tabelul IV

Tensiunea de forfecare τr și viscozitatea emulsiei 4

Poz.	*DR*	*Domeniul I*		$\tau r = Z \cdot \alpha$		*Rmp*	$n = \frac{\tau r}{Dr} \cdot 100$	
		$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$					
1 b	1,5	2	1	6,52	3,26	0,27	434,66	217,33
2 a	2,7	2	1	6,52	3,26	0,50	242,96	120,74
1 a	3	2	1	6,52	3,26	0,55	217,33	108,66
3 b	4,5	2	1	6,52	3,26	1,83	144,88	72,44
2 a	5,4	2,5	1	8,15	3,26	1	150,92	60,37
4 b	8,1	4	1	13,04	3,26	1,5	160,98	40,24
3 a	9	4	2	13,04	6,52	1,66	144,88	72,44
5 b	13,5	5	2	16,3	6,52	2,5	120,74	48,29
4 a	16,2	6,5	2	21,19	6,52	3	130,80	40,24
6 b	24,3	8,5	3	27,71	9,78	4,5	114,03	40,24
5 a	27	9	3	29,34	9,78	5	108,66	36,22
7 b	40,5	12,5	3	40,75	9,78	7,5	100,61	26,83
6 a	48,6	14	4	45,64	13,04	9	93,90	26,83
8 b	72,9	18,5	6	60,31	19,56	13,5	82,72	26,83
7 a	81	20	7	65,2	22,82	15	79,47	28,17
9 b	121,5	27,5	10	89,65	32,6	22,5	73,78	26,83
8 a	145,8	30,5	11	99,43	35,86	27	68,57	24,59
10 b	218,7	40	16,5	130,4	53,79	40,5	59,62	24,59
9 a	243	40	18	130,4	58,68	45	53,66	24,14
11 b	364,5	50	26,5	163	86,39	67,5	44,71	23,70
10 a	437,4	55	31	179,3	101,06	81	40,99	23,10
12 b	656	70	45,5	228,2	148,33	121,5	34,78	22,61
11 a	729	71	50	231,46	163	135	31,75	22,55
12 a	1312	86		280,36		243	21,36	

Cilindru N Z = 3,26 (DI)

Tabelul V

Tensiunea de forfecare τr și viscozitatea emulsiei 5

Poz.	*DR*	*Domeniul I*		*Domeniul II*		$\tau r = Z \quad \alpha$		*Rmp*	$n = \frac{\tau r}{Dr} \cdot 100$	
		$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$	$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$					
1 b	1,5	24	6			137,28	34,32	0,27	9152	2288
2 a	2,7	28	7,5			160,16	42,9	1,50	5931,85	1588,88
1 a	3	31	8			177,32	45,76	0,55	5910,66	1525,33
3 b	4,5	38,5	10			220,22	57,2	0,83	4893,77	1271,11
2 a	5,4	43	10			245,96	57,2	1	4554,81	1059,25
4 b	8,1	55	12			314,6	68,84	1,5	3883,95	847,40
3 a	9	56,5	12			323,18	68,64	1,66	3590,88	762,66
5 b	13,5	71	14			406,12	80,08	2,5	3008,29	593,18
4 a	16,2	74,5	14			426,14	80,08	3	2630,49	494,32
6 b	24,3	90	17			514,8	97,24	4,5	2118,51	400,16
5 a	27	71	17			406,12	97,24	5	1504,14	360,14
7 b	40,5	78	21,5			446,16	122,98	7,5	1101,62	303,65
6 a	48,6	78	23			446,16	131,56	9	918,02	270,69
8 b	72,9	84	29			480,48	165,88	13,5	659,09	227,54
7 a	81	62	31			354,64	177,32	15	437,82	218,91
9 b	121,5	91	39			520,52	223,08	22,5	428,41	183,60
8 a	145,8		41	10		557	251,68	27	384,13	172,62
10 b	218,7		57	12,5		696,25	326,04	40,5	318,24	149,08
9 a	243		62	13		724,1	354,64	45	297,98	145,94
11 b	364,5		82	16		891,2	469,04	67,5	244,49	128,68
10 a	437,4			17	10	946,9	557	81	216,48	127,34
12 b	656			19	13	1058,3	724,1	121,5	161,32	110,38
11 a	729			18	14	1002,6	779,8	135	137,53	59,43
12 a	1312			22		1225,4		243	93,39	

Cilindru S_1 Z = 5,72 (DI) Z = 55,7 (DII)

Tabelul VI

Tensiunea de forfecare τr și viscozitatea emulsiei 6

Poz.	*DR*	*Domeniul I*		*Domeniul II*		$\tau r = Z \cdot \alpha$		*Rmp*	$n = \frac{\tau r}{Dr} \cdot 100$	
		$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$	$\alpha\nearrow$	$\alpha\searrow$					
1 b	1,5	1	1			0	3,26	0,27	0	217,33
2 a	2,7	0,5	1			1,63	3,26	0,50	60,37	120,74
1 a	3	1,5	1			4,89	3,26	0,55	163	108,66
3 b	4,5	2	1,5			6,52	4,89	0,83	144,88	108,66
2 a	5,4	4	2			13,04	6,52	1	241,48	120,74
4 b	8,1	5	2,5			16,3	8,15	1,5	201,23	100,61
3 a	9	5,5	2,5			17,93	8,15	1,66	199,22	90,55
5 b	13,5	7	4			24,45	13,04	2,5	181,11	96,59
4 a	16,2	8,5	4			27,71	13,04	3	171,04	80,49
6 b	24,3	11	6			35,86	19,56	4,5	147,57	80,49
5 a	27	12	7			39,12	22,82	5	144,88	84,51
7 b	40,5	15	9			48,9	29,34	7,5	120,74	72,44
6 a	48,6	17	10,5			55,42	34,23	9	114,03	70,43
8 b	72,9	22,5	14,5			73,35	47,27	13,5	100,61	64,84
7 a	81	24	16			78,24	52,16	15	96,59	64,39
9 b	121,5	32	22			104,32	71,12	22,5	86,56	59,02
8 a	145,8	36	25,5			117,36	83,13	27	80,49	57,01
10 b	218,7	47	35,5			153,22	115,73	40,5	70,05	52,91
9 a	243	49	39			159,74	127,14	45	65,73	52,25
11 b	364,5	66	54			215,16	176,04	67,5	59,02	48,29
10 a	437,4	77	65			251,02	211,9	81	57,38	48,44
12 b	656	91	90		9	296,66	281,7	121,5	45,22	42,94
11 a	729			10,5	10	328,65	313	135	45,08	42,93
12 a	1312			17		532,1		243	40,55	

Cilindru N Z = 3,26 (DI) Z = 31,3 (DII)

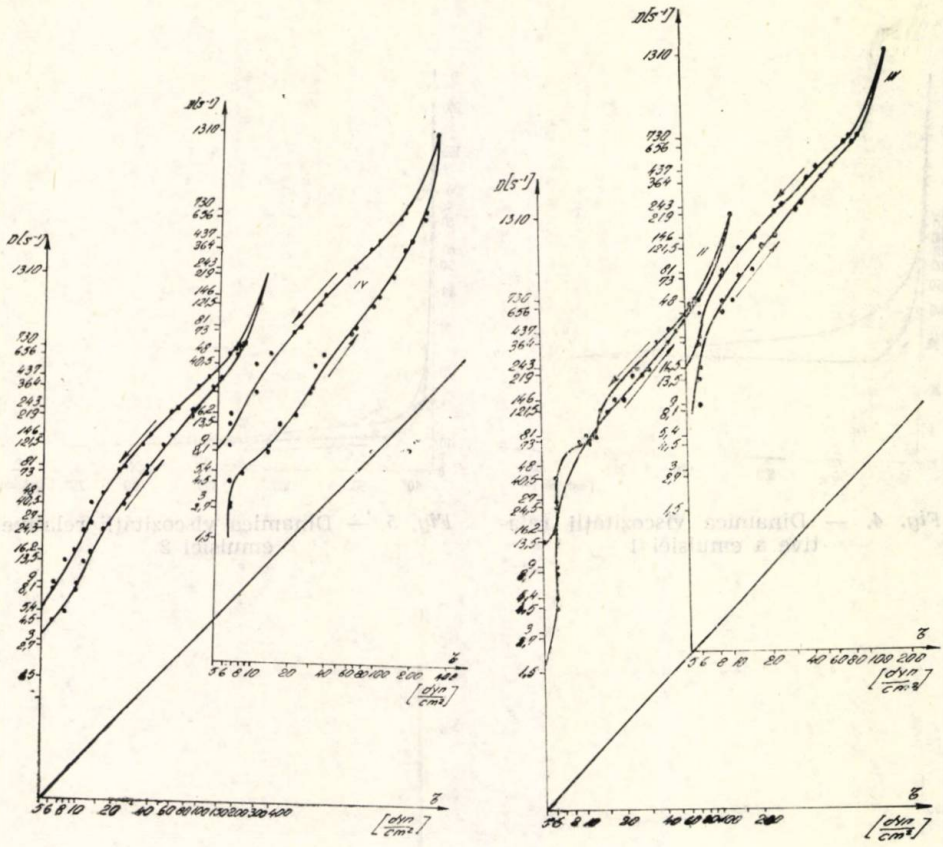


Fig. 1. — Curbele de curgere a emulsiilor 1 şi 4

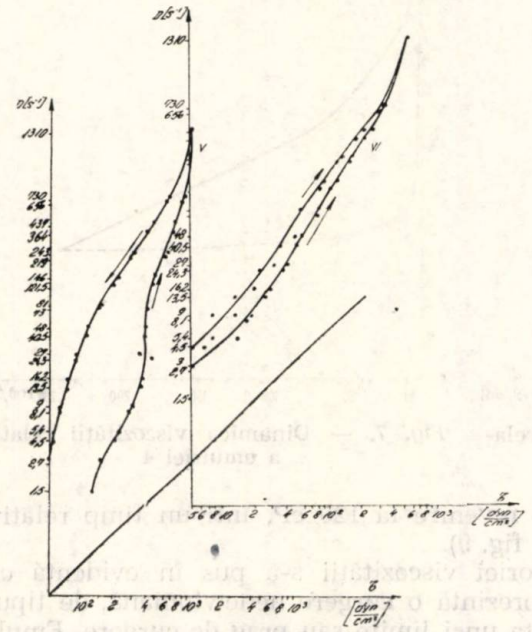


Fig. 2. — Curbele de curgere a emulsiilor 2 şi 3

Fig. 3. — Curbele de curgere a emulsiilor 5 şi 6

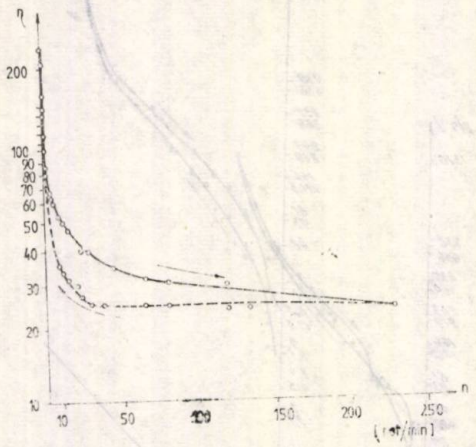


Fig. 4. — Dinamica vîscozității relative a emulsiei 1

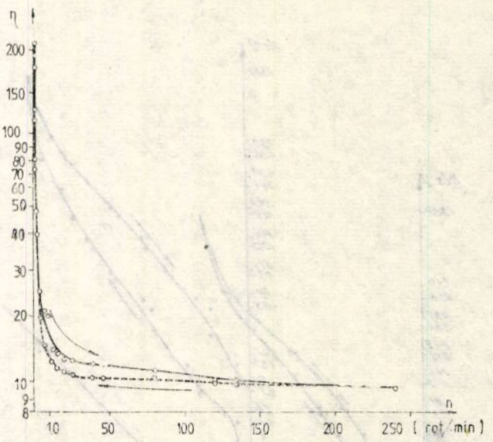


Fig. 5. — Dinamica vîscozității relative a emulsiei 2

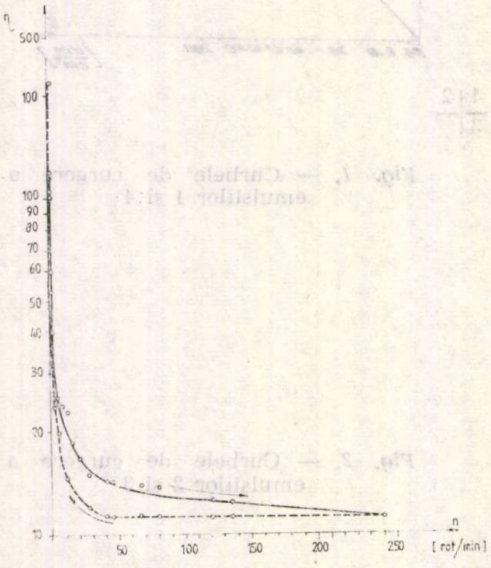


Fig. 6. — Dinamica vîscozității relative a emulsiei 3

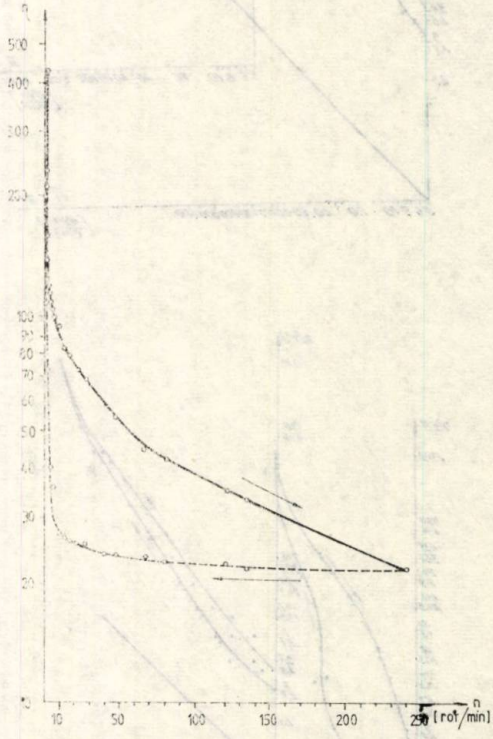


Fig. 7. — Dinamica vîscozității relative a emulsiei 4

vîscozității de la 199,22 cP, cu revenire la 120 cP, într-un timp relativ scurt față de emulsia 5 (fig. 8 și fig. 9).

În concluzie, pe baza teoriei vîscozității s-a pus în evidență că emulsiile de tip U/A studiate prezintă o curgere nenewtoniană, de tipul corpurilor tixotrope, cu existența unei limite sau prag de curgere. Emul-

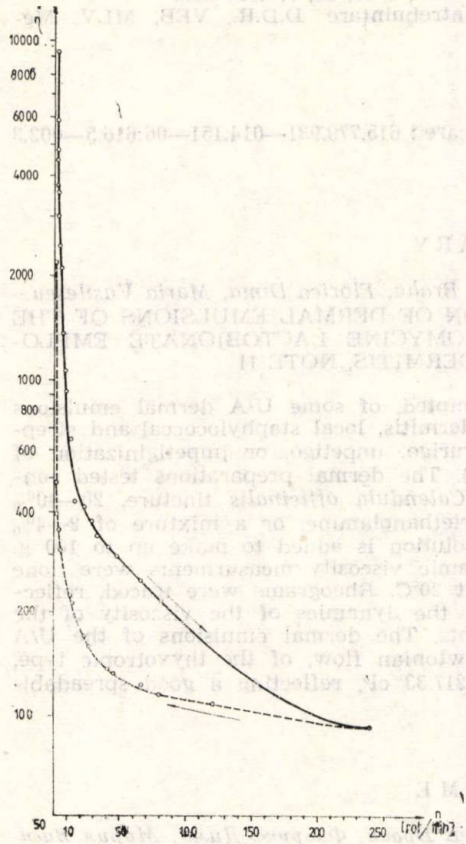


Fig. 8. — Dinamica vîscozității relative a emulsiei 5

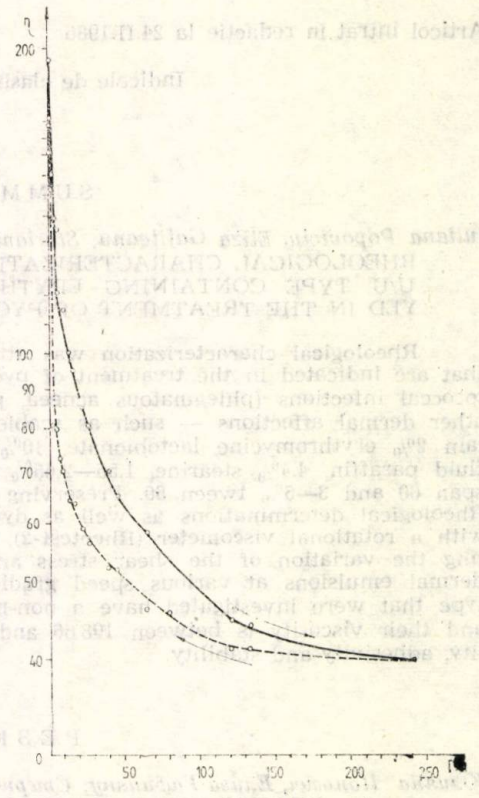


Fig. 9. — Dinamica vîscozității relative a emulsiei 6

siile prezintă o creștere a fluidității în urma aplicării tensiunii de forfecare, ceea ce are implicații favorabile asupra stabilității sistemului dispers. Acest tip de emulsie este cel mai convenabil din punct de vedere al utilizării, în special la aplicarea pe piele. Vîscozitatea dermoemulsiilor are valori cuprinse între 108,66 cP și 217,33 cP, caracteristică care atestă o bună capacitate de întindere, adezivitate și stabilitate.

BIBLIOGRAFIE

1. POPOVICI IULIANA, GAFIȚEANU ELIZA, DIMA FLORICA, DORNEANU V., VASILESCU MARIA, HRIȘCU ANIȘOARA, VOITCU MARIANA, GHERASIM P., PETRESCU ZENAIDA — „Cercetări privind realizarea și controlul unor dermoemulsii tip U/A cu lactobionat de eritromicină, utilizate în tratamentul piodermitelor. Nota I, *Farmacia (Buc.)*, 1986, *34*, 4.
2. GAFIȚEANU ELIZA, DIMA FLORICA, POPOVICI IULIANA, VASILESCU MARIA, DORNEANU V. PETRESCU ZENAIDA — Brev. Rom. 88712/nr. 887, din 24 octombrie 1985.
3. STĂNESCU V. — Tehnică farmaceutică, Ed. Medicală, București, 1982.
4. POPOVICI ADRIANA, TOKIES B., PAPP I., SUCIU GABRIELA — Reologia, formelor farmaceutice, Ed. Medicală, București, 1985.

5. HÖTTENRAUCH R., ZIELKE P. — *Pharmazie*, 1983, 38, 7, 492—493.
6. * * * — Prospect Rheotest 2. Mod de întrebuinţare. D.D.R., VEB, MLV, Medingen, 1981.

Articol intrat în redacţie la 24.II.1986

Indicele de clasificare : 615.779.931—014.151—06:616.5—002.3

SUMMARY

Iuliana Popoviciu, Eliza Gafiţeanu, Steriana Braha, Florica Dima, Maria Vasilescu — RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION OF DERMAL EMULSIONS OF THE U/U TYPE CONTAINING ERYTHROMYCINE LACTOBIONATE EMPLOYED IN THE TREATMENT OF PYODERMITIS, NOTE II

Rheological characterization was attempted, of some U/A dermal emulsions that are indicated in the treatment of pyodermitis, local staphylococcal and streptococcal infections (phlegmatous acneea, prurigo, impetigo, or impetiginization of other dermal affections — such as scabies). The dermal preparations tested contain 2% erythromycine lactobionate, 10% *Calendula officinalis* tincture, 20—40% fluid paraffin, 4.4% stearine, 1.55—2.66% triethanolamine, or a mixture of 2—4% span 60 and 3—6% tween 60. Preserving solution is added to make up to 100 g. Rheological determinations as well as dynamic viscosity measurments were done with a rotational viscometer (Rheotest-2), at 20°C. Rheograms were traced, reflecting the variation of the shear stress and the dynamics of the viscosity of the dermal emulsions at various speed gradients. The dermal emulsions of the U/A type that were investigated have a non-newtonian flow, of the thyxotropic type, and their viscosity is between 108.66 and 217.33 cP, reflecting a good spreadability, adhesivity and stability.

РЕЗЮМЕ

Юлияна Попович, Елиза Гафицяну, Стериана Браха, Флорика Дима, Мария Василеску — РЕОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕРМОЭМУЛЬСИЙ ТИПА У/А, СОДЕРЖАЩИХ ЛАКТОБИОНАТ ЭРИТРОМИЦИНА И ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПИОДЕРМИТОВ. ЗАМЕТКА II

В проведенном авторами исследовании изучалась реологическая характеристика некоторых дермоэмульсий типа У/А, показанных при лечении пиодермитов, местных стафилококковых и стрептококковых инфекций, как например: флегмонозное акне, пруриго, импетиго или импетигинизация других заболеваний/чесотка/.

Дерматологические препараты содержат в себе: 2% лактобионата эритромицина, 10% настойки *CALENDULA OFFICINALIS*,, 20—40% жидкого парафина, 4,4% стеарина, 1,55—2,66% триэтаноламина или смесь 2,4% *SPANGO* с 3—6% *TWEENGO* 60 и консервирующий раствор до 100г.

Реологические определения и динамическая вязкость изучались при помощи ротационного вискозиметра РЕО—ТЕСТ-2 при температуре в 20°С. Получились реограммы, отражающие колебания напряжения искромсания и динамику вязкости дермоэмульсий при различных градиентах скорости.

Изученные авторами дермоэмульсии типа И/А обладают неньютоновской текучестью, типа тиксотропных тел, а их вязкость включается в пределы от 108,66 до 217,33 ср, что указывает на их хорошую способность распростанения на коже, прилипания и устойчивости.

Influenţa solubilităţii şi coeficientului de repartiţie a fluocinolon-acetonidului în fazele unui unguent-emulsie (ulei în apă) asupra difuziei in vitro şi a biodisponibilităţii cutanate

S. E. Leucuţa

Facultatea de Farmacie, Cluj-Napoca

REZUMAT

S-a cercetat influenţa unor factori de formulare a unguentelor de tip emulsie ulei în apă cu fluocinolon acetonic, asupra solubilităţii în fazele emulsiei şi a coeficientului de repartiţie lipide-apă, a corticosteroidului şi influenţa modificării lor asupra difuziei in vitro *şi a absorbţiei transcutanate la voluntari.*

Distribuţia în fazele preparatelor s-a evaluat după separarea lor prin ultracentrifugare şi ultrafiltrare, iar determinarea cantitativă a corticosteroidului s-a făcut spectrofotometric în UV. Difuzia in vitro *a urmărit dizolvarea corticosteroidului din preparate în apă distilată la 32°C, sub agitare, iar absorbţia* in vivo *s-a evaluat prin determinare cu leucometrul a gradului de paloare ca urmare a vasoconstricţiei locale după aplicarea preparatelor. S-a constatat că fracţia de fluocinolon-acetonid liber în faza apoasă creşte cu creşterea concentraţiei medicamentoase a preparatelor şi cu creşterea proporţiei de propilenglicol în faza apoasă, dar scade cu creşterea concentraţiei de emulgator, polisorbat 80, în preparate. Difuzia* in vitro *creşte cu creşterea concentraţiei corticosteroidului în faza apoasă şi este proporţională cu rădăcina pătrată a timpului.*

Absorbţia transcutanată la voluntari creşte cu creşterea fracţiunii libere a fluocinolon-acetonidului în faza apoasă, dar scade în cazul în care coeficientul de repartiţie al corticosteroidului se micşorează la valori subunitare prin creşterea exagerată a proporţiei de propilenglicol în preparate.

Fuocinoloni acetonidum
Unguente
Biodisponibilitate
Cutis

Utilizarea corticosteroizilor în terapia unor afecţiuni ale pielii, are drept scop refacerea turnoverului normal al celulelor bazale ale epidermei, ceea ce presupune absorbţia percutanată a substanţei medicamen-

toase din preparatul farmaceutic aplicat. În cazul pielii cu strat cornos intact, penetrarea substanței medicamentoase este un proces controlat de membrană. Întrucît stratul cornos acționează ca o membrană de partiție, substanța medicamentoasă trebuie încorporată într-un vehicul față de care să manifeste o afinitate redusă. Cedarea sa din vehicul depinde de activitatea termodinamică. O solubilitate redusă în vehicul asigură o activitate crescută. În același timp însă transferul substanței medicamentoase prin epidermă depinde de coeficientul de repartiție între vehicul și stratul cornos (1—8).

Absorbția percutanată a corticosteroizilor a fost studiată în numeroase lucrări. În majoritatea lor, însă, fenomenul cercetat, difuzia *in vitro* sau *in vivo*, a fost pus în relație doar cu un factor determinant, fie el fizico-chimic, fie fiziologic.

Cedarea unei substanțe medicamentoase din vehicul poate fi optimizată prin factori de formulare. Uneori însă în acest proces poate fi micșorată absorbția în derm, în special prin micșorarea coeficientului de repartiție strat cornos-vehicul.

În această lucrare s-a cercetat distribuția fluocinolon-acetonidului în fazele unui unguent-emulsie de tip ulei în apă conținînd un emulgator neionic, polisorbatul 80 (9). Obiectivele studiului au fost determinarea solubilității corticosteroidului în faza lipofilă, apoasă și micelară a cremei, precum și a coeficientului de repartiție între faza lipofilă și apoasă, în funcție de unii factori de formulare : concentrația substanței medicamentoase în preparat, concentrația emulgatorului, concentrația unui solvent neapos miscibil cu apa, propilenglicolul, care crește solubilitatea corticosteroidului, dar micșorează polaritatea solventului apos. S-a urmărit apoi influența acestor factori asupra difuziei *in vitro* a corticosteroidului, precum și asupra biodisponibilității cutanate la oameni, evaluată prin testul vasoconstricției locale și măsurarea gradului de paloare cu ajutorul unui leucometru.

MATERIAL ȘI METODE

Preparatele farmaceutice studiate. S-au preparat unguente emulsie de tip ulei în apă avînd compoziția redată în tabelul I.

Prepararea lor s-a făcut astfel : componentele lipofile, uleiul de vaselină, stearatul de butil și alcoolul cetilic s-au topit pe baia de apă la 70°C, s-a adăugat polisorbatul 80, fluocinolon-acetonidul (1 ml dintr-o soluție metanolică 2,5%), propilenglicolul (numai la formulările specificate în tabelul I) și apa. S-a omogenizat amestecul pînă la răcire. Preparatele s-au păstrat în borcane de sticlă cu dop rodat, la temperatura camerei, pe durata efectuării determinărilor.

Tabelul I

Compoziția unguentelor emulsie de tip ulei în apă (g/g)

Ingredientul	*Formularea*								
	I	*II*	*III*	*IV*	*V*	*VI*	*VII*	*VIII*	*IX*
Fluocinolon-acetonid FA	0,0125	0,025	0,05	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Ulei de vaselină	20	0,025	0,05	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Stearat de butil	15	0,025	0,05	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Alcool cetilic	10	0,025	0,05	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Tween 80	3	3	3	1	3	5	3	3	3
Propilenglicol	—	—	—	—	—	—	20	40	52
Apă la	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Determinarea distribuției fluocinolon-acetonidului în fazele unguentului-emulsie s-a făcut după prealabila separare a acestora prin ultracentrifugare și ultrafiltrare. Unguentele s-au centrifugat la 40 000 rpm., timp de 30 minute, la temperatura de 20°C, la un aparat VAG 601 Janecky. Din faza lipidică s-a extras corticosteroidul cu metanol. Faza apoasă s-a filtrat prin celofan de dializă, la vid, spre a separa soluția apoasă de faza micelară. Conținutul fluocinolon-acetonidului s-a determinat cantitativ în UV la 244 nm în faza apoasă și la 242 nm în soluția metanolică, față de solventul de extracție, la un aparat VSU-2P Carl Zeiss Jena. Cantitatea de corticosteroid în faza micelară s-a calculat prin diferență, ținînd seama și de concentrația sa în unguent.

Determinarea coeficientului de distribuție a fluocinolon-acetonidului între faza lipidică și cea apoasă a cremelor. S-a făcut un amestec din componentele lipidice ale formulei de preparare (tabelul I) și o soluție apoasă conținînd 20 μg/ml fluocinolon-acetonid. S-au efectuat și amestecuri ale fluocinolon-acetonidului cu faza apoasă conținînd proporțiile de propilenglicol menționate în tabelul I. S-au păstrat amestecurile la 20°C, timp de 7 zile, agitînd intermitent. S-a determinat apoi conținutul de corticosteroid în faza apoasă, spectrofotometric în UV conform procedeului descris mai sus. Propilenglicolul nu modifică absorbția în UV a corticosteroidului. S-a făcut apoi raportul concentrațiilor fluocinolon-acetonidului în cele două faze, apoasă (fără Tween) și uleioasă, ținînd seama de cantitatea lor în amestec.

Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în apă s-a făcut adăugînd un exces de substanță medicamentoasă în apă, s-a păstrat suspensia la 20°C 7 zile agitînd intermitent, după care s-a determinat concentrația în faza apoasă prin dozare spectrofotometrică în UV.

Determinarea difuziei in vitro *a fluocinolon-acetonidului din creme.* S-a folosit un vas de sticlă de 400 ml în care s-a introdus mediul de dizolvare, 50 ml apă distilată, la 32°C. Preparatele de testat

s-au introdus în nacele de sticlă cu suprafața 10 cm^2 și înălțimea de 3 mm și s-au acoperit cu hîrtie Whatman 5 legată pe vas cu ață chirurgicală. Nacelele s-au introdus în mediul de dizolvare, care s-a agitat cu 40 rpm, cu un agitator cu palete de 3,5 cm lungime și 1 cm lățime, plasat imediat sub nivelul apei folosită ca mediu de dizolvare. S-au prelevat probe la timpuri diferite, care s-au filtrat, diluat și determinat cantitativ-spectrofotometric în UV după cum s-a menționat anterior. Cantitățile dizolvate de corticosteroid, s-au reprezentat grafic față de radicalul timpului la care s-au determinat în probe.

Determinarea absorbției cutanate la voluntari s-a efectuat prin testul acțiunii vasoconstrictoare. S-au aplicat preparatele cercetate pe antebraț, în cantitate de 1,5 g pe o suprafață de 16 cm^2, sub pansament ocluziv din folie de plastic izolată cu bandă adezivă. Pansamentul ocluziv s-a menținut 4 ore, după care s-a îndepărtat și s-a șters pielea cu tampon de vată umectat cu alcool etilic. Citirea gradului de paloare a zonei pe care s-a aplicat crema a fost efectuată cu ajutorul unui leucometru (Leucometer, Carl Zeiss Jena), care se utilizează în mod obișnuit pentru a determina gradul de alb al unor țesături, pulberi etc. Gradul de reflexie a fasciculului luminos este apreciat printr-o metodă de compensare fotometrică ; precizia măsurătorii cu acest dispozitiv crește în comparație cu aprecierea vizuală a efectului vasoconstrictor cutanat utilizată în mod curent în literatură. Citirile s-au făcut înainte de aplicarea probei, aceasta constituind proba de referință, apoi la 4, 6, 8 și 12 ore după aplicarea probei. Gradul de alb citit s-a comparat cu transmisia suprafeței tegumentului, ce a servit ca martor, înaintea aplicării probei. Fiecare preparat s-a aplicat pe cîte două zone ale antebrațului fiecărei mîini a subiectului. S-au prelucrat valorile medii.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele studiului solubilității fluocinolon-acetonidului în fazele preparatelor emulsie cercetate este redat în fig. 1—7. Distribuția fluocinolon-acetonidului în faza apoasă crește odată cu creșterea concentrației sale în unguent (fig. 1). Menținînd concentrația fluocinolon-acetonidului constantă (25 mg%) și crescînd concentrația de Tween, se constată că distribuția corticosteroidului scade în faza apoasă și cea lipofilă, dar crește în faza micelară (fig. 2, 3, 4). Înlocuirea unor părți din faza apoasă cu propilenglicolul, face să crească distribuția fluocinolon-acetonidului în faza apoasă, concomitent cu o scădere în faza uleioasă și micelară (fig. 5, 6, 7).

Studiul vitezei de difuzie *in vitro* a fluocinolon-acetonidului din preparatele cercetate este ilustrat în fig. 8—10. Se constată o cedare conformă cu ecuațiile, descrise pentru difuzia din unguente de Higuchi T., Higuchi W. I. (9, 10). Cantitatea cedată este liniară cu rădăcina pătrată a timpului de difuzie, pe perioada cercetată. Cedarea crește cu creșterea concentrației fluocinolon-acetonidului în preparate (fig. 8), precum și cu creșterea concentrației de propilenglicol în faza apoasă (fig. 9) dar scade odată cu creșterea concentrației de polisorbat în preparate (fig. 10).

Observațiile efectuate prin aceste studii duc la concluzia că fracția fluocinolon-acetonidului în faza apoasă crește cu creșterea concentrației sale în preparat și cu creșterea proporției de propilenglicol în faza apoasă, ca urmare a creșterii solubilității corticosteroidului. Creș-

BIBLIOGRAFIE

1. RAINSFORD K. D. — *Aust. J. Pharm.*, 1975, *56*, 373.
2. OLSSON J. E. și colab. — *Stroke*, 1980, *11*, 1.
3. MUSTARD J. F., KINLOUGH R. R. L., PACKHAM M. A. — *Ann. Rev. Med.*, 1980, *31*, 89.
4. LEVY G. — *Brit. J. clin. Pharmacol.*, 1980, *10*, 285.
5. THIESSEN J. J. — în : „Acetylsalicylic Acid, New Uses for an Old Drug" (sub red. Barnett H.J.M., Hirsh J., Mustard J. F.), Raven Press, New York, 1982, p. 49.
6. MARTIN B. K. — *Advanc. Pharm. Sci.*, 1971, *3*, 107.
7. VANE J. R. — *Nature*, 1971, *231*, 232.
8. BRANTMARK B., HEDNER V., MELANDER A., WAHLIN B. E. — *Lancet*, 1981, *2*, 1 349.
9. LEONARDS J. R., LEVY G. — *Arch. int. Méd.*, 1972, *129*, 457.
10. LEONARDS J. R., LEVY G. — *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1969, *10*, 571.
11. DONBROW M., FRIEDMAN M. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1975, *27*, 637.
12. HIGUCHI W. I., HIGUCHI T. — *J. Amer. pharm. Ass., sci. Ed.*, 1960, *49*, 598.
13. LEUCUȚA S. E., POP R. D., POLINICENCU C., TOPALA A. — *Arch. Un. med. Balk*, 1983, *21*, 161.
14. LEUCUȚA S. E., POP R. D., KORY M., TOADER S., POLINICENCU C., BOJITA M. — *Farmacia (Buc.)*, 1983, *31*, 77.
15. LEUCUȚA S. E. — *Clujul medical*, 1986, 1.
16. * * * A 67-a parte a lucrării „Contribuții la cercetarea biofarmaceutică a medicamentelor" (sub red. S. E. LEUCUȚA și colab.).
17. CHIOU W. L., ONYEMELUKWE I. — *J. Pharm. Sci.*, 1974, *63*, 630.
18. LEUCUȚA S. E., POP R. D. — Farmacocinetica, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1981.
19. ROWLAND M., RIEGELMAN S. — *J. Pharm. Sci.*, 1968, *57*, 1 313.
20. DOYLE E., CHASSEAUD L. F., TAYLOR T. — *Pharm. Int.*, 1974, *36*, 723.
21. BRANTMARK, B. WAHLIN BOLL E., MELANDER A. — *Europ. J. Clin. Pharmacol.*, 1982, *22*, 309.

Articol intrat în redacție la 9.VII.1986.

Indicele de clasificare : 615.752:34—033

SUMMARY

E. Curea, I. Ban, E. S. Leucuța, M. Bojiță, E. Cardan — INFLUENCE OF BUFFERING AN OF MICROENCAPSULATION OF ACETYLSALICYLIC ACID ON THE DISSOLVING SPEED AND BIOAVAILABILITY. NOTE II

Investigations were made on the bioavailability of acetylsalicylic acid tablets prepared with a buffering substance (calcium carbonate), or with microcapsules of ethylcellulose. In each case one gram of acetylsalicylic acid was administered to healthy volunteers. Quantitative determination of the medicinal drug in the plasma was carried out for salycilate. It was noted that in the case of tablets containing microcapsules the absorption speed, the maximal concentration and the duration of peak concentrations were lower than iwith the buffered tablets. Bioavailability was similar. The dissolving speed of acetylsalicylic acid from buffered tablets in high, and follows the curve of a first order kinetics. Acetylsalicylic acid diffuses through the polymeric film according to diffusion kinetics from a cast. The results suggest the possibility to obtain similar pharmacologic effects with both preparations. Tablets containingmicrocapsules have the advantage of achieving prolonged plasma concentrations and prolonged liberation of the substance. Buffered tablets have the advantage of a rapid effect, possibly also due to the small amounts of non-metabolized medicinal drug.

РЕЗЮМЕ

Е. Куря, И. Бан, С. Е. Леукуца, М. Божицэ, Е. Кардан — ВЛИЯНИЕ НАЛИЧИЯ БУФЕРНОГО ВЕЩЕСТВА И МИКРОКАПСУЛЯЦИИ ТАБЛЕТОК АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА БЫСТРОТУ ИХ РАСТВОРЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ СПОСОБНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Была исследована биологическая способность использования таблеток ацетилсалициловой кислоты, приготовленных либо при наличии буферного вещества — углекислого кальция, либо в форме микрокапсул покрытых этилцеллюлёзой. Здоровым добровольцам вводилась в каждом случае по 1г. ацетилсалициловой кислоты. Количественное определение лекарственного вещества в плазме крови производилось в форме салицилата. Было установлено, что, в случае таблеток с микрокапсулами, постоянная величина быстроты абсорбции, уровень максимальных концентраций и максимальное время более низкие, чем после принятия таблеток приготовленных при наличии буферного вещества, а их биологическая способность использования-сходная.

Быстрота растворимости ацетилсалициловой кислоты из таблеток приготовленных при буферном веществе-более высокая и соответствует кинетике первого разряда. Ацетилсалициловая кислота диффундирует сквозь пленку полимера, окутывающую частицы, согласно кинетике диффузии сквозь матрицу. Полученные результаты наводят на мысль о возможности сходного фармакологического действия обоих препаратов, с преимуществом более длительного выделения активного вещества и более продолжительной концентрации в плазме в случае таблеток с микрокапсулами, или с преимуществом более скорого действия, более усиленного, вероятно, связанного с существованием небольшого количества лекарственного, неметаболизированного вещества, в случае таблеток приготовленных при наличии буферного вещества.

Modificările unor constante biochimice sub influența unor noi derivați de triazină

Nota II

Denisa Mihele, Elena Cristea, Șt. Tămășdan, Ana Tătaru

REZUMAT

S-au testat 8 noi derivați de triazină pentru stabilirea efectelor asupra electroliților plasmatici (Na^+, K^+), a glicemiei, colesterolemiei și a influenței asupra secreției gastrice.

Substanțele nu modifică semnificativ natremia, kalemia, glicemia și colesterolemia.

Activitatea secretorie gastrică este diminuată în mod diferit de substanțele testate; cei mai activi sînt compușii: T_5, T_{12}, T_8, T_4.

Triazide
Acetazolamidum
Electroliți
Glicemie
Colesterolemie
Secreție gastrică
Experiment

În continuarea cercetărilor noastre în seria derivaților de triazină, alți 8 compuși au fost studiați pentru stabilirea efectelor asupra electroliților plasmatici, a glicemiei, colesterolemiei și a influenței exercitate asupra secreției gastrice.

Substanțele se caracterizează prin prezența în molecula lor a unui inel aromatic mono- sau disubstituit cu radical metil, halogen sau $—SO_2—NH_2$. Unul dintre compuși are radicalul β-naftil în loc de benzil (tabelul I).

MATERIAL ȘI METODĂ

Substanțele testate s-au folosit în suspensie apoasă 1%, cu adaos de gumă arabică 0,25%.

S-a lucrat pe șobolani albi, masculi, în greutate de 140—170 g, uniform repartizați în loturi de cîte 6—8 animale și ținuți la post de alimente 18 ore.

Animalele au fost tratate cu substanțele luate în studiu în doză de 25 mg/kilocorp. i.m. Lotul martor a primit numai vehicolul.

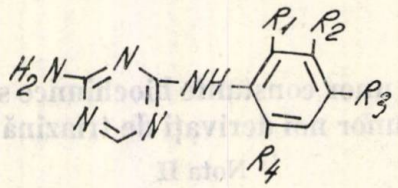
După 2 ore de la tratare se sacrifică animalele, se recoltează sîngele și se centrifughează.

Serul separat s-a folosit pentru următoarele determinări : natremie, kalemie, glicemie și colesterolemie (2, 3, 4).

Pentru determinarea efectului asupra secreției gastrice s-au folosit 10 loturi de cîte 15 șobolani albi, masculi, în greutate de 125—165 g.

Tabelul I

Structura substanțelor testate



Denumire convențională	R_1	R_2	R_3	R_4
T_1	CH_3	H	H	H
T_3	H	CH_3	H	H
T_5	H	H	CH_3	H
T_2	H	Cl	H	H
T_6	H	Cl	H	Cl
T_4	H	H	Br	H
T_8	H	H	SO_2NH_2	H
T_{12}	β-naftil în loc de benzil substituit			

S-a aplicat metoda Shay (cit. de 2), sacrificările făcîndu-se la 2, 4 și 7 ore după legaturarea pilorului. Triazinele în studiu și acetazolamida luată drept substanță etalon au fost administrate în doze de 25 mg/kilocorp i.m.

După sacrificarea animalelor s-a excizat stomacul, s-a măsurat volumul conținutului gastric și s-a determinat aciditatea liberă și totală (3).

REZULTATE

Dintre constantele biochimice, natremia și kalemia s-au determinat cu ajutorul flamfotometrului digital cu afișaj cifric, tip I L 473 ; ele sînt puțin influențate de substanțele cercetate.

Colesterolemia (metoda Zurkowscki) este scăzută la loturile tratate cu substanțele T_6 și T_5 și este crescută de T_2, T_1 și acetazolamidă, fără efect fiind restul compușilor.

Glicemia determinată colorimetric este moderat scăzută numai de triazinele : T_3, T_{12}, T_5 (tabelul II).

Secreția gastrică după 2 ore este scăzută mult de compușii T_4, T_5, T_6 și T_{12}, depășind activitatea acetazolamidei, iar aciditatea totală este redusă cu valori cuprinse între 54, 70%—75% (tabelul III).

După 4 ore volumul secreției gastrice este scăzut față de martori la loturile tratate cu T_1, T_2 și T_8, iar aciditatea totală prezintă scăderi cuprinse între 60,30% și 70,30% (tabelul IV).

După 7 ore volumul conținutului gastric este scăzut la toate loturile de animale tratate. Aciditatea totală este și ea scăzută cu valori cuprinse între 37,20% și 69,10% (tabelul V).

Comparîndu-se efectele produse asupra volumului și acidității conținutului gastric substanța T_5 este cea mai activă, determinînd scăderile cele mai marcate.

Tabelul II

Acțiunea triazinelor testate asupra colesterolemiei, glicemiei, natremiei și kalemiei

Substanțe	*Doza mg/ kilocorp i.m.*	*Colesterol total mg/100 ml*	*Glicemie mg/100 ml*	*Natremie mEq/l*	*Kalemie mEq/l*
T_1	250	99,30	67,92	131,25	6,20
T_3	25	81,83	60,00	134,75	6,36
T_5	25	79,58	64,67	135,30	6,45
T_2	25	106,00	78,90	135,60	6,24
T_6	25	72,60	67,68	135,20	6,48
T_4	25	80,23	67,90	135,80	5,80
T_8	25	83,34	76,75	131,6	6,50
T_{12}	25	81,34	63,43	132,2	6,30
Acetazolamide	25	99,50	67,34	124,6	6,18
—	—	86,50	71,10	136	6,3

Tabelul III

Substanțe	*Doza mg/kilocorp i.m.*	*Conținut gastric mediu ml/100 g*	*Aciditate gastrică 2h*			
			aciditate liberă		*aciditate totală*	
			mEq/l	*E%*	*mEq/l*	*E%*
T_1	25	3,9	4,40	0	22,16	−28,50
T_3	25	2,5	0	−100	30	0
T_5	25	1,7	0	−100	11,53	−62,80
T_2	25	5,3	4,38	0	24,80	−19,80
T_6	25	2,0	0	−100	12,52	−54,70
T_4	25	1,1	0	−100	7,46	−75,00
T_8	25	3,0	0	−100	12,86	−58,50
T_{12}	25	2,35	9,80	+118	53,10	−70,30
Acetazolamidă	25	2,90	0	−100	17,70	−42,90
—	—	4,70	4,50	—	30,98	—

Tabelul IV

Substanțe	Doza mg/ kilocorp i.m.	Conținut gastric mediu ml/100 g	Aciditate gastrică 4h			
			aciditate liberă		aciditate totală	
			mEq/l	E%	mEq/l	E%
T_1	25	1,13	2,55	—83,00	11,16	—69,00
T_3	25	2,73	4,46	—70,30	22,01	—39,00
T_5	25	2,31	2,22	—85,20	12,47	—65,35
T_2	25	1,67	0,72	—95,20	11,40	—68,30
T_6	25	2,47	14,20	— 5,36	40,72	+13,06
T_4	25	2,80	8,42	—43,90	40,45	+15,43
T_8	25	1,62	0	—100	10,70	—70,30
T_{12}	25	1,77	16,50	+10,00	31,78	—12,80
Acetazolamidă	25	2,14	1,42	—90,50	10,35	—71,26
—	—	2,64	15,02	—	35,90	—

Tabelul V

Substanțe	Doza mg/ kilocorp i.m.	Conținut gastric mediu ml/100 g	Aciditate gastrică 7h			
			aciditate liberă		aciditate totală	
			mEq/l	E%	mEq/l	E%
T_1	25	2,30	8,15	—18,15	22,20	—69,10
T_3	25	2,40	7,31	—26,90	23,64	—67
T_5	25	2,55	7,05	—29,50	33,66	—53,30
T_2	25	2,73	9,47	— 5,30	32,47	—54,86
T_6	25	3,40	5,87	—41,30	41,50	—42,06
T_4	25	3,57	6,63	—33,7	32,74	—54,30
T_8	25	4,22	5,75	—42,55	45,00	—37,20
T_{12}	25	2,44	1,06	—89,45	26,30	—63,30
Acetazolamidă	25	2,60	7,36	—26,40	35,08	—51,03
—	—	5.58	9,86	—	71,64	—

DISCUȚII

Derivații de triazină studiați se caracterizează prin radicalul grefat pe inelul aromatic. Cei mai activi au fost compușii T_5 cu gruparea p-tolil și T_6 cu 2,6-diclorbenzil. Substanțele au produs scăderi atît ale conținutului gastric, cît și ale acidității sucului gastric la diferite perioade de timp de la administrarea parenterală. Ele au fost mai active decît substanța etalon la 2 ore și egale cu aceasta la 7 ore.

Introducerea unui halogen în moleculă nu determină diferențe semnificative în ceea ce privește activitatea asupra secreției gastrice.

Triazina T_8 care are radicalul — SO_2NH_2 fixat în poziția para pe inelul aromatic are o activitate bună asupra secreției gastrice, apropiată de a substanței etalon, în a căror structură intră elemente comune.

Prezența radicalului β-naftil (T_{12}) în molecula triazinei nu duce la modificări semnificative ale acțiunii.

Dintre toate triazinele testate (5) se detașează prin efectul inhibitor asupra secreției gastrice substanțele : T_5, T_{12}, T_4 și T_8. Ele urmează a fi testate mai amănunțit, în vederea stabilirii mecanismului de acțiune și introducerea în terapeutică a celui mai activ.

CONCLUZII

S-au testat 8 noi derivați de triazină alături de acetazolamidă pentru stabilirea influenței lor asupra unor constante biochimice.

1. Substanțele nu modifică semnificativ natremia, kalemia, glicemia și colesterolemia.

3. Aciditatea gastrică este marcat scăzută de compușii T_5, T_{12}, T_8 și T_4.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * — Brevet austriac, 1959, nr. 206444.
2. DOBRESCU D., CRISTEA E., MURGU, L., CRISTEA A. — Farmacodinamie, lucrări practice, Litografia I.M.F., București, 1978.
3. MANTA I., CUCUIANU M., BENGA G., HODÎRNĂU A. — Metode biochimice în laboratorul clinic, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976.
4. NUȚA GH., BUȘNEAG C. — Investigații biochimice, Ed. Medicală, București, 1977.
5. TATARU A., CRISTEA E., NEGOȘANU G., GRULESCU F. — *Farmacia* (Buc.), 1979, *27*, 2, 117.
6. TĂMĂȘDAN ST., CRISTEA E., MIHELE D., TĂTARU A. — *Farmacia*, 1986, *35*, (2).

Articol intrat în redacție la 8.IV.1986

Indicele de clasificare : 615.778.25/.296—092.259:547.873

SUMMARY

Denisa Mihele, Elena Cristea, St. Tămășdan, Ana Tătaru — MODIFICATION OF SOME BIOCHEMICAL CONSTANTS UNDER THE INFLUENCE OF NEW DERIVATIVES OF TRIAZINE. NOTE II

Eight new triazine derivatives have been tested with a view to establish their effects on plasma electrolytes (sodium and potassium), on blood glucose, cholesterol, and on the gastric secretion. These derivatives do not alter significantly plasma sodium and potassium, nor the blood glucose or cholesterol. Gastric secretory activity is diminished variably by the substances tested, the most active are compounds T_5, T_{12}, T_8 and T_4.

РЕЗЮМЕ

Дениза Михеле, Елена Кристя, Шт. Тэмэшдан, Анна Тэтару — ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРАХ БИОХИМИЧЕСКИХ КОНСТАНТ ПОД ВЛИЯНИЕМ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИАЗИНА. ЗАМЕТКА II

Были проверены 8 новых производных триазина в целях установления их действия на плазменные электролиты /Na , K /, на гликемию, на холестеринемию и в отношении их влияния на желудочную секрецию.

Эти вещества не изменяют значительным образом натремию, калиемию, гликемию и холестеринемию.

Секреторная деятельность желудка понижается различным образом под воздействием испытанных веществ; наиболее активными являются соединения: T_5, T_{12}, T_4 и T_8.

Cercetări farmacodinamice asupra unor noi derivați de tiouree

Nota II

Elena Cristea, Jana Soare, Al. Missir, Ileana Chiriță, Mihaela Dinulescu, Domnica Enescu

REZUMAT *S-au cercetat șase noi tioureide ale acidului 3,4,5-trietoxibenzoic pentru stabilirea profilului farmacodinamic.*

Unele substanțe au acțiune tranchilizantă moderată; toate au efect analgezic pentru unele dintre ele comparabil cu cel produs de noraminofenazonă; compușii nu influențează efectul convulsivant al penterazolului și nici ptoza rezerpinică. Substanțele nu produc efecte pe sinapsa colinergică din glandele salivare. S-a constatat o acțiune antifibrilantă la unele tioureide și pentru toate un efect de reducere a vitezei de deplasare a tranzitului intestinal. Compușii testați nu modifică glicemia, numai ES_{39} scade colesterolul seric total la șobolan și cresc activitatea transaminazelor serice, reducînd-o pe cea a fosfatazei alcaline.

Tiouree
Farmacodinamie

În continuarea studiilor farmacodinamice asupra substanțelor noi din seria tioureei, alți 6 derivați ai acidului 3,4,5-trietoxibenzoic au fost cercetați în cadrul unui screening farmacodinamic.

Structura tioureidelor se caracterizează prin prezența în molecula lor a unui inel aromatic mono- sau disubstituit sau a unui radical naftalenic (tabelul I).

S-a urmărit stabilirea efectelor asupra sistemului nervos central și asupra sinapsei colinergice din glandele salivare, apoi s-a cercetat influența asupra aparatului digestiv și asupra cordului. A mai fost cercetată acțiunea asupra unor constante biochimice (glicemie, colesterolemie) și influența asupra activității unor enzime serice.

MATERIAL ȘI METODĂ

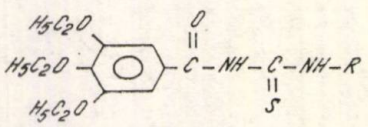
S-au folosit suspensii apoase 1,5 și 10% ale compușilor în studiu, alături de unele substanțe de referință (meprobamat, imipramină, noraminofenazonă, atropină, chinidină, clofibrat) sau a unor agenți farmacologici. S-au aplicat tehnicile curente de cercetare în farmacologia experimentală, descrierile succinte asupra lor urmînd a fi date o dată cu prezentarea rezultatelor (3, 7, 8).

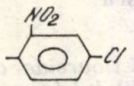
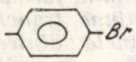
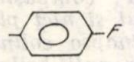
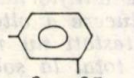
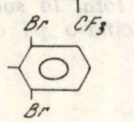
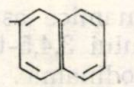
Tioureidele fiind noi, s-a efectuat inițial și o testare preliminară a toxicității acute : determinările adecvate și complete vor fi făcute numai pentru substanțele care prezintă interes din punct de vedere farmacodinamic.

Tabelul I

Structura tioureidelor în studiu

Formula generală:



Denumirea convențională	*R =*
ES_{36}	
ES_{37}	
ES_{38}	
ES_{39}	
ES_{40}	
ES_{42}	

REZULTATE

1. *Toxicitatea acută*

Toxicitatea acută a compușilor s-a urmărit la șoareci albi, repartizați uniform în loturi de cîte 5 animale, la care s-au administrat oral 500 și 1 000 mg/kilocorp, cu urmărirea stării generale și a mortalității în decurs de 72 de ore. S-a constatat că nici o mortalitate nu s-a produs la doza de 500 mg/kilocorp, iar la doza dublă au murit 20% din animale, cu excepția compusului ES_{38}, la care mortalitatea a fost de 80%.

Pentru investigațiile următoare s-a utilizat doza de 100 mg/kilocorp oral.

2. *Acțiuni asupra sistemului nervos central*

2.1. *Efecte tranchilizante.* S-au cercetat prin aplicarea testelor : motilitate normală și hipermotilitate produsă de amfetamină, tija turnantă, redresare, evaziune pe un plan înclinat (3).

Tioureidele studiate au avut o acțiune tranchilizantă moderată sau redusă, comparativ cu substanța-etalon — meprobamat — în doză echivalentă (50 mg/kilocorp oral) (tabelul II).

2.2. *Acțiunea antidepresivă,* după tehnica lui Simon (7), a constat în aprecierea prin puncte la diferite perioade de timp a deschiderii fantei palpebrale la șoarecii tratați cu reserpină 2 mg/kilocorp i.p., la 60 minute de la administrarea substanțelor de studiat și a imipraminei (25 mg/kilocorp oral). Din tabelul III se observă că față de substanța etalon, tioureidele studiate au efect mult mai scăzut.

2.3. *Acțiunea anticonvulsivantă* față de pentetrazol în doză de 60 mg/kilocorp i.p. (DC_{50}) a fost practic absentă la toate cele șase substanțe studiate.

2.4. *Acțiunea analgezică* s-a cercetat pe șoareci albi, de ambele sexe, prin aplicarea unui stimul chimic (acid acetic 0,7% i.p.) și notarea numărului de contorsiuni la martori și la tratații cu tioureide sau noraminofenazonă în doză de 100 mg/kilocorp oral.

Șoarecii martor au prezentat în medie 28 de contorsiuni de animal, în 10 minute. Toți compușii au redus răspunsul la agentul algogen, cei mai activi au fost ES_{38} (scădere cu 76,80%) și ES_{39} (scădere cu

63,35%). Compușii ES_{36}, ES_{40} și ES_{42} au redus cu valori cuprinse între 41,07—57,14%. Mai puțin activ a fost ES_{37} care a scăzut numărul de contorsiuni față de martori cu numai 25% (tabelul IV). Noraminofenazona a produs o scădere de 45,71%.

Tabelul II

Efectul tranchilizant (testat cu ajutorul a cinci modele experimentale) al tioureidelor studiate și al meprobamatului

Substanța	*Motilitate*		*c) Testul tijei turnante* % căderi	*d) Testul redresării* % căzuți	*e) Testul evadării pe plan înclinat* % ieșiți
	a) normală reducere %	*b) hipermotilitate scădere* %			
ES_{36}	50	20	30	20	20
ES_{37}	60	40	10	30	20
ES_{38}	40	20	10	10	10
ES_{39}	25	0	0	10	10
ES_{40}	40	10	0	10	10
ES_{42}	25	0	0	0	10
Meprobamat	80	50	60	60	40

Taeblul III

Acțiunea ureidelor cercetate și a imipraminei asupra ptozei rezerpinice la șoarece

Substanța	*Doza (mg/kilocorp)*	*Punctaj mediu/șoarece*			*Media pe oră*
		1 oră	*2 ore*	*3 ore*	
—	—	2,5	1	0,25	1,25
ES_{36}	100	2,2	1	0,5	1,20
ES_{37}	100	2,8	1,5	0,5	1,60
ES_{38}	100	3	1,5	1	1,80
ES_{39}	100	2,8	0,6	0,25	1,20
ES_{40}	100	2	1,2	0,60	1,30
ES_{42}	100	2,2	1,2	1	1,5
Imipramina	25	3,8	3	1,7	2,80

3. *Acțiunea asupra sinapsei colinergice din glanda salivară*

Acțiunea asupra sinapsei colinergice din glanda salivară la șoarece s-a testat pe loturi de cîte 5 animale narcotizate cu uretan 1 g/kilocorp i.p., la o oră după tratamentul cu tioureidele în studiu sau atropină 1 mg/kilocorp i.p. După instalarea narcozei la fiecare animal s-a injectat s.c. pilocarpină 2 mg/kilocorp, recoltîndu-se saliva la fiecare 5 minute.

Efectul substanțelor studiate a fost inferior celui produs de atropină.

Tabelul IV

Acțiunea analgezică față de stimul chimic a tioureidelor în studiu și a noraminofenazonei

Substanța	*Numărul mediu de contorsiuni/șoarece/ 10′(±es)*	*Scădere 10%*
—	28 ±1,20	—
ES_{36}	12 ±0,5	57,14
ES_{37}	21 ±1,8	25
ES_{38}	7,50±0,31	76,80
ES_{39}	10,25±0,94	63,35
ES_{40}	13 ±0,72	53,57
ES_{42}	16,50±1,3	41,07
Noraminofenazona	15,20±0,88	45,71

4. *Acțiunea asupra cordului*

4.1. Efectul antifibrilant s-a cercetat față de fibrilația experimentală produsă de cloroform la șoareci (8), exprimîndu-se prin puncte gradul de protecție conferit de tioureidele în studiu sau de chinidină (80 mg/kilocorp i.p.).

Substanțele ES_{36}, ES_{39}, ES_{40} și ES_{42} au protejat șoarecii tratați cu ele, asemănător cu substanța etalon (protecție 50—66,7%), iar compușii ES_{73} și ES_{33} n-au avut practic efect (tabelul V).

5. *Acțiunea asupra tranzitului intestinal*

S-a cercetat la șoareci pretratați cu tioureidele în studiu sau papaverină, prin utilizarea unei suspensii de cărbune, administrată oral și apoi stabilirea distanței parcurse de pulberea inertă din lungimea intestinului subțire. Pentru efect stimulator al peristaltismului intestinal s-a adăugat suspensiei sulfat de magneziu 15%.

Cu excepția compusului ES_{40}, tioureidele au redus viteza de deplasare a conținutului intestinal, cele mai active fiind ES_{36}, ES_{42} și ES_{39}.

Tabelul V

Acțiunea tioureidelor în studiu și a chinidinei asupra fibrilației experimentale la șoarece

Substanța	*Punctaj mediu/animal*	*Protecție %*
—	1,20	—
ES_{36}	0,40	66,70
ES_{37}	1,20	0
ES_{38}	1,00	16,70
ES_{39}	0,40	66,70
ES_{40}	0,60	50
ES_{42}	0,60	50
Chinidina	0,60	50

Asupra tranzitului stimulat de către sulfatul de magneziu un efect de diminuare apropiat de al papaverinei a avut numai substanța ES_{36} (tabelul VI).

Tabelul VI

Acțiunea tioureidelor în studiu și a papaverinei asupra tranzitului intestinal

Substanța	Tranzit normal		Tranzit stimulat cu $MgSO_4$	
	distanța parcursă	efect %	distanța parcursă	efect %
—	48,20±3,2	—	79,80±6,2	—
ES_{35}	31,74±1,1	−34	60,55±3,1	−23,36
ES_{37}	41,44±1,8	−14	76,55±2,2	0
ES_{38}	37,60±2,1	−20	85,03±7,1	0
ES_{39}	34,36±1,5	−28,70	70,40±4,5	−10
ES_{40}	46,00±3,2	0	80,83±6,7	0
ES_{42}	34,00±1,3	−30	70,70±4,3	−10
Papaverina	32,28±2,8	−33,30	59,30±3,1	−25

6. *Glicemia și colesterolemia*

Glicemia și colesterolemia la șobolan, determinate după trei zile de tratament cu tioureide sau clofibrat, în doză de 100 mg/kilocorp oral, au fost scăzute cu excepția substanțelor ES_{30} și ES_{40} care n-au modificat glicemia. Din tabelul VII se constată că ES_{39} are acțiune de reducere a colesterolemiei cu 27,08% și a glicemiei cu 15,10%. Și ES_{42} scade colesterolul seric total cu 20,50%, efect superior celui produs de clofibrat, luat ca substanță de referință.

Tabelul VII

Acțiunea tioureidelor în studiu și a clofibratului asupra glicemiei și colesterolemiei la șobolan

Substanța	Glicemie (mg/100 ml ser)	Efect %	Colesterolemie (mg/100ml ser)	Efect %
—	89 ±7	0	71,30±4,1	—
ES_{36}	86,50±6,5	0	62,50±5,1	−12,34
ES_{37}	81,50±5,4	− 8,40	60 ±3,8	−15,84
ES_{38}	75 ±5,9	−15,75	60 ±4,1	−15,84
ES_{39}	75,5 ±3,5	−15,10	52 ±2,3	−27,08
ES_{40}	84 ±7,1	0	62,50±5,3	−12,34
ES_{42}	77,5 ±4,8	−13,00	57 ±4,9	−20,56
Clofibrat	72 ±5,3	−19,10	58,20±3,6	−18,37

7. *Acțiunea asupra activității unor enzime serice*

S-a folosit aparatul ABBOT 100, cu ajutorul căruia se pot efectua o serie întreagă de cercetări asupra activității unui număr mare de enzime prin schimbarea sistemului de reactivi și cu cantități mici de ser sanguin. În serul obținut de la animalele testate la punctul 6 s-au cercetat transaminazele — GOT și GPT, precum și fosfataza alcalină. Din tabelul VIII se constată că activitățile transaminazelor serice sînt crescute la majoritatea loturilor tratate cu tioureidele în studiu, efectul cel mai intens apărînd la șobolanii care au primit ES_{38}, ES_{39} și ES_{40}. Activi-

tatea fosfatazei alcaline este scăzută marcat de ES_{36}, care de altfel a influențat mai puțin transaminazele, și este crescută de ES_{42}.

Tabelul VIII

Influența tioureidelor în studiu asupra activității unor enzime serice

Substanța	*G.O.T.*		*G.P.T.*		*Fosfataza alcalină*	
	(u.i.)	*efect %*	*(u.i.)*	*efect %*	*(u.i.)*	*efect %*
—	48	—	62	—	292	—
ES_{36}	51	+ 6,25	69,5	+12	175	−40,06
ES_{37}	49,5	+ 3,12	70,5	+13,7	250	−14,30
ES_{38}	87	+81,25	94	−51,6	293	0
ES_{39}	63	+31,25	85,5	+37,9	280	− 3,42
ES_{40}	61	+27,83	88	+41,95	291	0
ES_{42}	60	+25,00	80	+12,90	350	+19,86

DISCUȚII

Tioureidele sînt o clasă interesantă de substanțe prin efectele produse asupra sistemului nervos central, asupra unor constante biochimice și prin acțiunea antitiroidiană (1, 2, 4).

Sintetizarea de noi derivați a avut ca ipoteză de lucru obținerea de compuși cu acțiune mai selectivă și cu toxicitate mai scăzută (5). S-a testat multe substanțe avînd în structura lor radicali de la acizii trimetoxi trietoxi- și dimetoxi-benzoici (1, 5).

Cele șase noi tioureide se caracterizează structural prin prezența în moleculă a unui inel aromatic mono- sau disubstituit sau a unui nucleu naftalenic. Ca substituenți s-au introdus pe nucleul benzenic halogeni (clor, brom sau fluor) sau radicali nitro, triflormetil.

Substanțele au reduse efecte deprimante asupra sistemului nervos central, unele au o moderată activitate de tip tranchilizant, dintre care se remarcă ES_{37} cu un atom de brom în poziția para, dar efectul nu mai apare la compusul dibromurat (ES_{40}).

Toate substanțele au acțiune analgezică față de stimul chimic, dar efectul cel mai intens îl produce compusul cu fluor în poziția para (ES_{38}) ca și cel cu radicalul triflormetil în poziția meta (ES_{39}).

Substanțele nu influențează efectul convulsivant al pentetrazolului și nici asupra ptozei rezerpinice nu au acțiune evidentă. Dar asupra cordului intoxicat cu cloroform au avut acțiune protectoare ES_{36} și ES_{39}. Compusul ES_{36} are acest efect probabil legat și de prezența în molecula lui a radicalului nitro- pe inelul aromatic, ceea ce îl face interesant pentru studii mai amănunțite în viitor. Substanța ES_{39} s-a evidențiat și prin acțiunea de diminuare a colesterolemiei mai intensă decît a clofibratului.

Activitatea transaminazelor serice este crescută de tioureidele studiate cu valori diferite, aceasta constituind un dezavantaj pentru unele dintre ele cum este ES_{38} — cea mai activă ca analgezic. Compusul ES_{36} care s-a remarcat prin efect moderat tranchilizant, acțiunea analgezică și antifibrilantă este mult mai puțin activă asupra activității G.O.T. și G.P.T. și reduce activitatea fosfatazei alcaline.

Din tabelul IX, în care se notează cu cifra 1 compusul cu acțiunea cea mai intensă și cu cifra 6 pe cel mai slab activ sau lipsit de acțiune, se poate aprecia în *concluzie* că sînt interesante pentru studii ulterioare mai amănunțite, următoarele tioureide : ES_{36}, ES_{37}, ES_{38} și ES_{39}.

Tabelul IX

Acţiunea comparativă a tioureidelor studiate şi a substanţelor etalon (ultima coloană) pe diferite modele experimentale

I. Acţiuni pe S.N.C.	ES_{36}	ES_{37}	ES_{38}	ES_{39}	ES_{40}	ES_{12}	Substanţa etalon
I.1. Efecte tranchilizante prin :							
— testul motilităţii normale	2	1	3	3	4	3	meprobamat 1
— testul hipermotilităţii	3	2	3	3	4	3	1
— testul tijei turnante	4	3	4	4	5	4	1
— testul redresării	5	5	6	6	6	6	1
— testul evaziuni pe plan inclinat	5	5	5	6	6	5	2
(punctaj mediu)	(3,8)	(3,2)	(4,2)	(4,4)	(5)	(4,2)	(1,2)
I.2. Antagonizarea ptozei rezerpinice	6	5	4	6	6	5	imipramina 1
I.3. Acţiune analgezică (stimulare chimică)	3	6	1	2	4	5	noraminofenazona 1
II. Acţiune asupra cordului Efect asupra fibrilaţiei experimentale	2	6	4	2	3	3	chinidina 1
III. Acţiune asupra tranzitului intestinal							papaverina
III.1. — tranzit normal	1	5	4	2	6	3	1
III.2. —tranzit stimulat	3	6	6	5	6	6	3
IV. Constante biochimice							clofibrat
IV.1. Glicemie	6	6	4	4	6	5	3
IV.2. Colesterolemie	5	4	4	1	3	5	4
V. Enzime serice							
V.1. G.O.T. (creştere)	6	6	1	3	3	3	—
V.2. G.P.T. (creştere)	5	5	1	4	4	5	—
V.3 Fosfataza alcalină (scădere)	1	5	6	6	6	5	—

* S-a notat cu cifra 1 cel mai activ şi cu 6 cel mai puţin activ sau inactiv.

BIBLIOGRAFIE

1. CRISTEA E., MIHELE D., TĂMĂŞDAN S., SOARE J., MISSIR AL., CHIRIŢĂ I., MIHĂESCU O., PĂLĂDOIU M. — *Farmacia (Buc.)*, 1983, *31*, 4, 221.
2. DOBRESCU D. — Farmacoterapie, Ed. Medicală, Bucureşti, 1981.
3. DOBRESCU D., CRISTEA E., MURGU L., CRISTEA A. — Farmacodinamie — lucrări practice, Litografie, I.M.F., Bucureşti, 1978.
4. MARKWARDT F. — Allgemeine und spezielle Pharmakologie, Verlag Volk und Gesundheit Veb., Berlin, 1983, p. 288.
5. MISSIR AL. V. — Teză de doctorat, I.M.F., Bucureşti, 1984.
6. NUŢĂ GH., BUŞNEAG C. — Investigaţii biochimice, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1977.
7. SIMION P. — *Therapie*, 1965, 20, 6, 1 123.
8. TURNER R. — Screening methods in Pharmacology, Acad. Press Inc., New York, 1965.

Articol intrat în redacţie la 8.IV.1986.

Indicele de clasificare : 615.761.62—015

SUMMARY

Elena Cristea, Jana Soare, Al. Missir, Ileana Chiriță, Mihaela Dinulescu, Domnica Enescu — PHARMACODYNAMIC STUDIES ON NEW DERIVATIVES OF THIOUREEA. NOTE IX

Six new thioureea derivatives were studied, thioureides of the 3,4,5-triethoxybenzoic acid, with a view to establish their pharmacodynamic profile. Some of the derivatives have a moderate tranquillizing effect. All have analgesic effects, for some the effect being comparable to that of noraminophenazone. The compounds do not influence the convulsant effect of penterazole, neither reserpinic ptosis. The substances have no effects on the cholinergic synapse from the salivary glands. It was noted that some of the thioureides have an anti-fibrilating effect. All have effects on the intestinal transit, by reducing its speed. The compounds do not alter blood glucose but ES_{39} lowers total serum cholesterol in the rat. It also increases the activity of serum transaminases, and lower alkaline phosphatase.

РЕЗЮМЕ

Елена Кристя, Жана Соаре, Ал. Миссир, Илияна Кириць, Михаела Динулеску, Домника Енеску — ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СВЯЗИ С НОВЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ТИОМОЧЕВИНЫ. ЗАМЕТКА IX

Были исследованы шесть новых тиоуреидов 3, 4, 5-тритоксибензойной кислоты в целях определения их фармакодинамического облика.

Некоторые из этих веществ обладают умеренным успокаивающим действием; все они обладают анальгетическим свойством, в отношении некоторых из ний — сходным с действием нораминофеназона; эти соединения не влияют на действие, вызывающее судороги, пентеразола и ни на резерпиновый птоз. Вещества не действуют на холинэнергический синапс в слюнных железах. Установлено антифибрилляционное действие некоторых тиоуреидов, и, в отношении всех, — уменьшение скорости передвижения кишечного транзита. Испытанные соединения не изменяют гликемию и только соединение EC_{39} увеличивает содержание общего холестерина в сыворотке крови и повышает активность сывороточных трансаминаз, одновременно снижая активность щелочной фосфатазы.

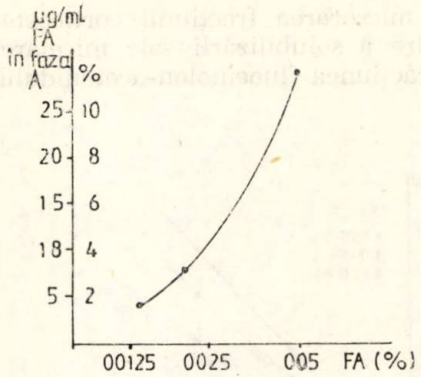


Fig. 1. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza apoasă în funcție de concentrația sa în unguentele emulsie ulei în apă nr. I—III.

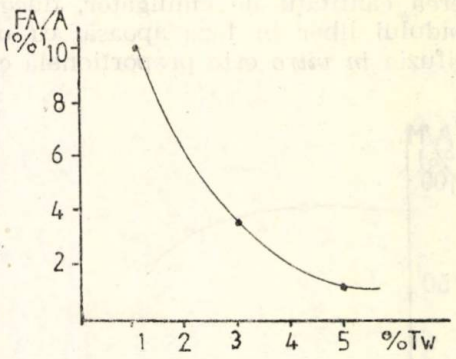


Fig. 2. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza apoasă în funcție de concentrația polisorbatului 80 în unguentele emulsie nr. IV—VI.

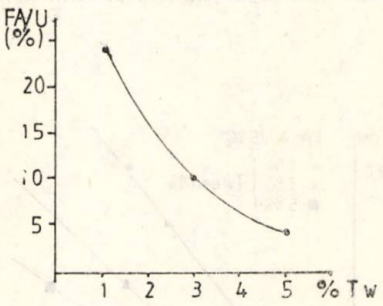


Fig. 3. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza lipidică în funcție de concentrația polisorbatului 80 în unguentele emulsie nr. IV—VI.

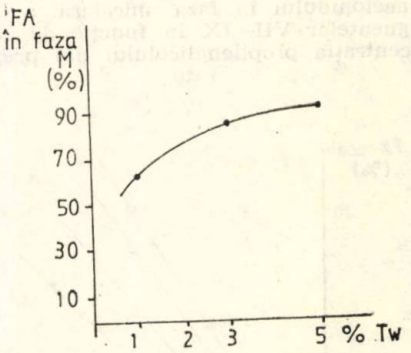


Fig. 4. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza micelară în funcție de concentrația polisorbatului 80 în unguentele emulsie IV—VI.

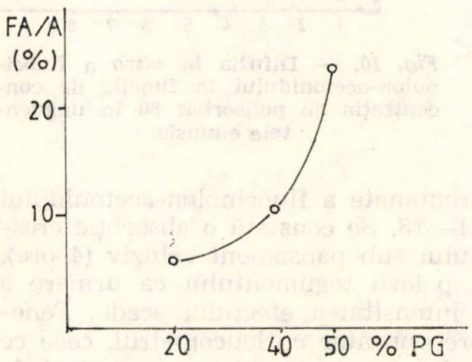


Fig. 5. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza apoasă a unguentelor VII—IX în funcție de concentrația propilenglicolului din preparate.

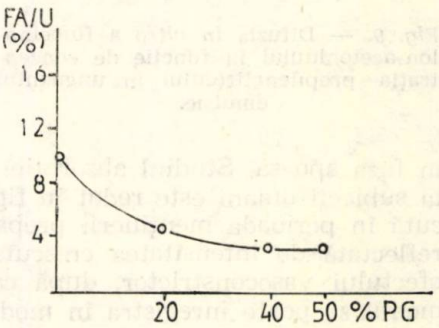


Fig. 6. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza lipidică a unguentelor VII—IX în funcție de concentrația propilenglicolului din preparate.

terea cantității de emulgator, duce la micșorarea fracțiunii corticosteroidului liber în faza apoasă, ca urmare a solubilizării sale micelare. Difuzia *in vitro* este proporțională cu fracțiunea fluocinolon-acetonidului

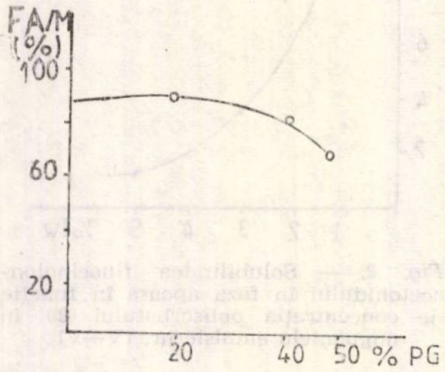


Fig. 7. — Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza micelară a unguentelor VII—IX în funcție de concentrația propilenglicolului din preparate.

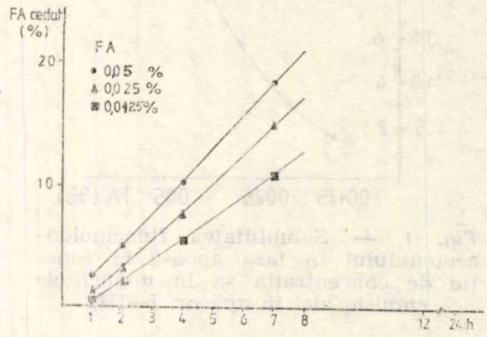


Fig. 8. — Difuzia *in vitro* a fluocinolon-acetonidului în funcție de concentrația sa în unguentul emulsie.

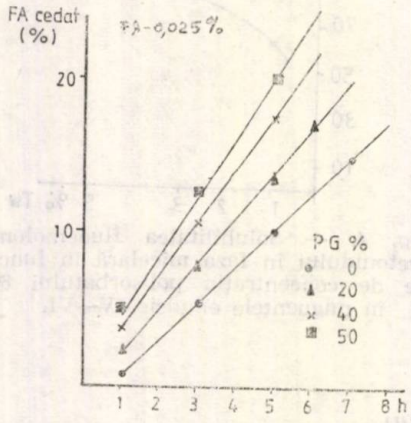


Fig. 9. — Difuzia *in vitro* a fluocinolon-acetonidului în funcție de concentrația propilenglicolului în unguentul emulsie.

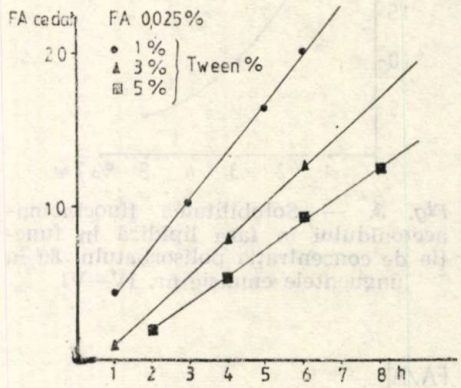


Fig. 10. — Difuzia *in vitro* a fluocinolon-acetonidului în funcție de concentrația de polisorbat 80 în unguentele emulsie.

în faza apoasă. Studiul absorbției percutanate a fluocinolon-acetonidului la subiecți umani este redat în fig. 11—13. Se constată o absorbție crescută în perioada menținerii preparatului sub pansament ocluziv (4 ore), reflectată de intensitatea crescută a palorii tegumentului ca urmare a efectului vasoconstrictor, după care intensitatea efectului scade. Fenomenul se poate înregistra în mod corespunzător cu leucometrul, ceea ce reduce numărul de citiri pentru o probă, în comparație cu procedeul de observare vizual citat în literatură (11—13). Se constată că absorbția corticosteroidului crește odată cu creșterea concentrației sale în preparate și implicit în faza apoasă (fig. 11). Scăderea concentrației fluocino-

lon-acetonidului în faza apoasă în urma includerii în micele, scade efectul (fig. 12). Creşterea proporţiei de propilenglicol în faza apoasă a preparatelor, are un efect variabil, odată cu creşterea concentraţiilor de propilenglicol, creşte absorbţia, dar peste 40% propilenglicol în preparat duce la o micşorare a absorbţiei cutanate (fig. 13). Aceste fapte pot fi interpretate prin evaluarea solubilităţii şi a coeficientului de repartiţie lipide/apă a corticosteroidului. Odată cu creşterea proporţiei de propilenglicol în faza apoasă, creşte solubilitatea fluocinolon-acetonidului în această fază, dar coeficientul de repartiţie lipide/apă se micşorează (fig. 14) (tabelul II).

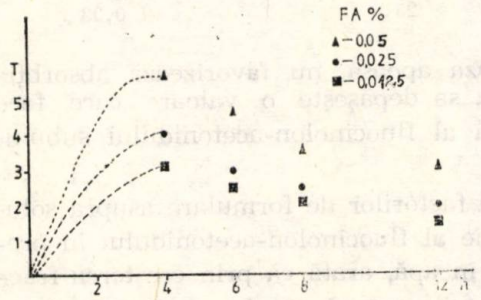


Fig. 11. — Absorbţia percutanată a fluocinolon-acetonidului în funcţie de concentraţia sa în unguentul emulsie.

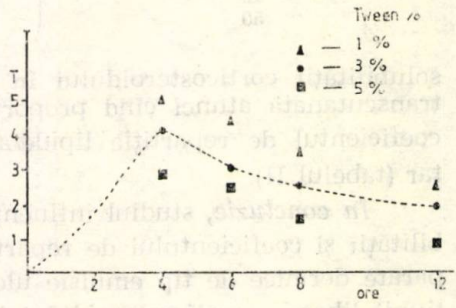


Fig. 12. — Absorbţia percutanată a fluocinolon-acetonidului în funcţie de concentraţia sa în faza apoasă, determinată de concentraţia polisorbatului 80 în unguentele emulsie.

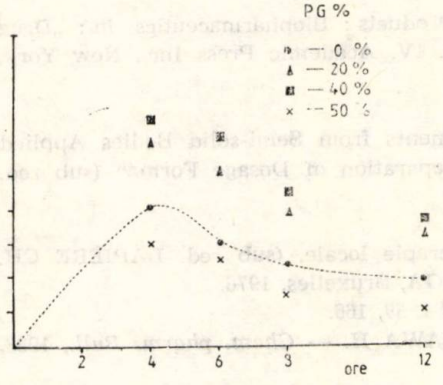


Fig. 13. — Absorbţia percutanată a fluocinolon-acetonidului în funcţie de concentraţia propilenglicolului în unguentele emulsie.

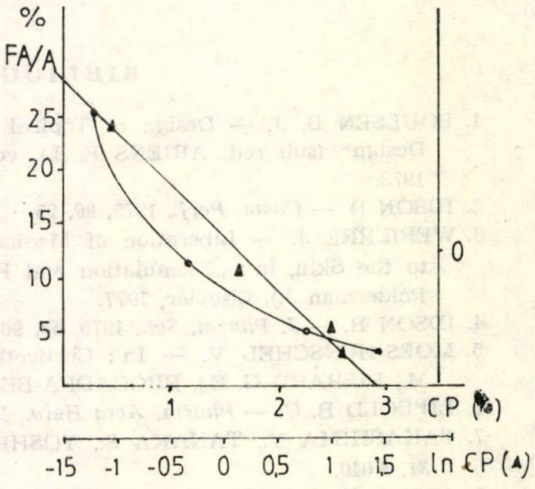


Fig. 14. — Creşterea solubilităţii fluocinolon-acetonidului în faza apoasă în funcţie de proporţia propilenglicolului în această fază.

Prin urmare, un exces de cosolvent, propilenglicolul, care micşorează coeficientul de repartiţie lipide/apă prin scăderea polarităţii mediului hidrofil, deşi asigură o bună cedare *in vitro*, ca urmare a creşterii

Tabelul II

Modificarea solubilității în faza apoasă și a coeficientului de repartiție lipide/apă a fluocinolon-acetonidului în funcție de proporția de propilenglicol din preparat

Proporția de propilenglicol în preparat	*Solubilitatea fluocinolon-acetonidului în faza apoasă*	*Coeficientul de repartiție lipide/apă al fluocinolon-acetonidului*
0	3	3
20	6	2,2
40	11	1,1
50	25	0,33

solubilității corticosteroidului în faza apoasă, nu favorizează absorbția transcutanată atunci cînd proporția sa depășește o valoare care face coeficientul de repartiție lipide/apă al fluocinolon-acetonidului subunitar (tabelul II).

În concluzie, studiul influenței factorilor de formulare asupra solubilității și coeficientului de repartiție al fluocinolon-acetonidului în preparate dermice de tip emulsie ulei în apă, arată că prin creșterea fracțiunii libere a corticosteroidului în faza apoasă are loc o creștere a difuziei *in vitro* și *in vivo,* atîta timp cît nu are loc o scădere a coeficientului de repartiție al substanței medicamentoase la valori subunitare ; în acest caz are loc și o scădere a coeficientului de repartiție strat cornos-vehicul, ceea ce micșorează absorbția transcutanată.

BIBLIOGRAFIE

1. POULSEN B. J. — Design of Topical Products : Biopharmaceutics, în : „Drug Design" (sub red. ARIENS E. J.), vol. IV, Academic Press Inc., New York, 1973.
2. IDSON B. — *Cosm. Perf.*, 1975, *90*, 25.
3. WEPIERRE J. — Liberation of Medicaments from Semi-solid Bodies Applied to the Skin, în : „Formulation and Preparation of Dosage Forma" (sub red. Polderman J.), Elsevier, 1977.
4. IDSON B. — *J. Pharm. Sci.*, 1975, *64*, 901.
5. MOËS-HENSCHEL V. — În : Corticotherapie locale, (sub red. LAPIÈRE CH. M., PIERARD G. E.), BROCADEA-BELGA, Bruxelles. 1976.
6. LIPPOLD B. C. — *Pharm. Acta Helv.*, 1984, *59*, 166.
7. TAKASHIMA Y., TANAKA S., YOSHIZAWA H. — *Chem. pharm. Bull.*, 1983, *31*, 4 040.
8. ASCHE H., BOTTA L., RETTIG H., WEIRICH E. G. — *Pharm. Acta Helv.*, 1985, *60*, 232.
9. * * * — A 64-a parte a lucrării „Contribuții la cercetarea biofarmaceutică a medicamentelor", (sub red. LEUCUȚA S. E. și colab.).
10. HIGUCHI T. — *J. Pharm. Sci.*, 1961, *50*, 874 ; ib., 1963, *52*, 1 145.
11. HIGUCHI W. I. — *J. Pharm. Sci.*, 1962, *51*, 802.
12. POULSEN B. J., YOUNG L., COQUILLA V., KATZ M. — *J. Pharm. Sci.*, 1968, *57*, 928.

13. SCHEUPLEIN R. J. — *J. invest. Dermat.*, 1965, *45*, 334.
14. Mc KENZIE A. W., STOUGHTON R. D. — *Arch. Derm.*, 1962, *85*, 608.

Articol intrat în redacție la 9.VII.1986.

Indicele de clasificare : 615.361.453—014.157—033.616.5

SUMMARY

S. E. Leucuța — THE INFLUENCE OF SOLUBILITY AND OF REPARTITION COEFFICIENTS OF FLUOCINOLON ACETONIDE IN THE PHASES OF AN EMULSION ONGUENT (OIL IN WATER) ON THE *IN VITRO* DIFFUSION AND ON THE BIOAVAILABILITY TO THE SKIN

The influence was investigated, of certain formulation factors of onguents of the oil in water emulsion type containing fluocinolon acetonide on the solubility of the phases of the emulsion, and of the lipid-water repartition coeficient of the corticosteroid, and the influence of their changes on the *in vitro* diffusion, and of the transcutaneous absorption in volunteers. The distribution in the phases of the preparation was evaluated following their separation by ultracentrifugation and ultrafiltration, and the quantitative determination of the corticosteroid was done by UV spectrophotometry. The *in vitro* diffusion followed the solving of the corticosteroid from the preparation in distilled water at 32°C under continous stirring, and the *in vivo* absorption was evaluated by leucometry of the pallor index following local vasoconstriction after the application of the preparations. It was noted that the free fluocinolon acetonid fraction in the aqueous phase increases with the increased concentration of the medicinal drug, and the amount of propylenglycol in the aqueous phase, and decreases when the concentration of polysorbate 80 (the emulgator) increases in the preparations. The *in vitro* diffusion increases with the concentration of the corticosteroid in the qaqueous phase, and is proportional with the square root of the time. Transcutaneous absorption in volunteers increases with the increased free fraction of fluocinolon acetonide in the aqueous phase and decreases when the repartition coefficient of the corticosteroid is under the unit by exaggerated increase of propylenglycol in the preparations.

РЕЗЮМЕ

С. Е. Леукуца — ВЛИЯНИЕ РАСТВОРИМОСТИ И КОЭФФИЦИЕНТ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛУОЦИНОЛОН-АЦЕТОНИДА В ФОРМЕ МАЗИ-ЭМУЛЬСИИ /РАСТИТЕЛЬНОЕ МАСЛО В ВОДЕ/ НА ДИФФУЗИЮ *ин витро* И НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ СПОСОБНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЖЕЙ

Было исследовано влияние некоторых факторов формулировки мазей типа эмульсии-растительное масло в воде-, содержащей флуоцинолон-ацетонид, на растворимость в этапе эмульсии и на коэффициент распределения жиры-вода кортикостероида и влияние их изменений на диффузию *ин витро* и на чрезкожную абсорбцию у добровольно согласившихся людей.

Распределение на этапах препаратов оценивалось после их сепарации путем ультрацентрифугирования и ультрафильтрации, а количественное определение кортикостероида производилось при помощи спектрофотометрии в ультрафиолетовом свете. Диффузия *ин витро* выявилась растворением кортикостероида из препаратов в дистиллированной воде при температуре в 32°С и при перемешивании, а абсорбция *ин виво*

оценивалась при помощиопределения на лейкометре степени бледности, появляющейся вследствие местного сужения сосудов после прикладывания препаратов. Установлено, что фракция свободного флуоцинолона-ацетонида в водном этапе повышается одновременно с повышением лекарственной концентрации препаратов и с повышением пропорции пропиленгликоля в водном этапе, но понижается если концентрация эмульгатора полисорбата 80, возрастает в препаратах. Диффузия *ин витро* повышается одновременно с повышением концентрации кортикостероида в водном этапе и она пропорциональна с квадратным корнем времени. Чрезкожная абсорбция у добровольцев повышается с повышением свободной фракции флуоцинолона-ацетонида в водном этапе, но понижается если коэффициент распределения кортикостероида уменьшается до подединичных значений, благодаря чрезмерному повышению пропорции пропиленгликоля в препаратах.

Influența administrării metronidazolului sub formă de microsfere de gelatină asupra farmacocineticii pulmonare a unei doze unice intravenoase la șobolani

S. E. Leucuța *, R. Rișca **, D. Daicoviciu **

Facultatea de Farmacie * și Institutul Oncologic **, Cluj-Napoca

REZUMAT

S-a cercetat farmacocinetica metronidazolului administrat intravenos la șobolani în doză unică de 200 mg/kg sub formă de microsfere de gelatină cu diametrul de 10—20 μm, și sub formă de fosfat de metronidazol. Concentrațiile medicamentoase în ser și plămîni pot fi descrise cu ecuațiile modelului farmacocinetic bicompartimentat. S-a constatat o farmacocinetică similară a metronidazolului în ser și plămîni după administrarea sării solubile a esterului fosforic al metronidazolului. În schimb, după administrarea microsferelor de gelatină cu metronidazol, în plămîni se realizează concentrații medicamentoase de pînă la cinci ori mai mari, comparativ cu cele din ser și o biodisponibilitate relativă de 3 ori mai mare comparativ cu cea din ser, raportate la aceeași masă de produs biologic. Filtrarea mecanică a microsferelor în țesutul pulmonar poate realiza astfel o concentrație medicamentoasă cu mult mai mare decît în restul organismului, ceea ce constituie premisa pentru o terapie localizată a unei stări de boală la nivel pulmonar.

Metronidazolum
Farmacocinetică
Pulmo
Experiment

În ultimul timp un interes deosebit este acordat în literatura de specialitate sistemelor parenterale cu cedare controlată a substanțelor medicamentoase, care pot fi localizate în anumite țesuturi spre a elibera ingredientele active pe o perioadă prelungită. În acest scop s-au utilizat microsfere preparate din polimeri biodegradabili, printre care și gelatina (1).

Administrarea sistemică intravasculară a unor microsfere medicamentoase cu dimensiuni de 15—25 μm duce la reținerea lor în primul pat vascular capilar întîlnit. După administrarea intravenoasă acestea sînt reținute în plămîni, fapt care permite o terapie localizată la nivelul acestui organ (2, 3). Dintre substanțele medicamentoase care se pretează acestui fel de medicație, citostaticele ocupă un loc important. Me-

tronidazolul este un radiosensibilizant al celulelor tumorale, dar administrarea pe cale orală și intravenoasă nu realizează concentrații suficient de mari în organul afectat, datorită dificultăților tehnologice de a realiza forme farmaceutice cu concentrații ridicate. Administrarea sub formă de microsfere ar putea depăși această dificultate.

În lucrări anterioare s-a cercetat farmacocinetica metronidazolului administrat intravenos, oral și rectal la subiecți umani (4—6) și farmacocinetica unor doze unice de metronidazol și un derivat bioreversibil al metronidazolului, fosfatul de metronidazol, administrate subcutanat la șobolani (7).

De asemenea s-a cercetat prepararea, proprietățile și cedarea *in vitro* a unor microsfere de gelatină cu metronidazol (8—10).

În această lucrare s-a evaluat farmacocinetica nivelelor serice și pulmonare a metronidazolului administrat la șobolani în doză unică, intravenos, sub formă de fosfat de metronidazol și microsfere de gelatină cu metronidazol (11).

MATERIAL ȘI METODE

Substanțele medicamentoase utilizate. S-a folosit metronidazol de calitate farmaceutică (12) și un ester fosforic al metronidazolului sub forma sării sale dipotasice (13). Metronidazolul s-a încorporat în microsfere de gelatină prin suspendare, iar fosfatul de metronidazol s-a folosit sub formă de soluție apoasă 10%.

Prepararea microsferelor de gelatină cu metronidazol. Într-un balon de sticlă de 1 000 ml s-au introdus 185 g ulei de vaselină, 1 g Span 80, apoi s-a adăugat, sub agitare, o suspensie de 5 g metronidazol într-o soluție apoasă de gelatină preparată prin dizolvarea a 19 g gelatină în 64 g apă. Temperatura soluțiilor la amestecare a fost de 50°C. Agitarea s-a făcut cu un agitator cu palete cu o turație de 300 rpm. Pulberea de metronidazol suspendată în soluția de gelatină avea particule mai mici de 60 μm. Agitarea s-a menținut la 300 rpm timp de 5 minute după care s-a răcit balonul de amestecare cu gheață, timp de 15 minute. S-au adăugat apoi 75 ml alcool izopropilic și s-a agitat amestecul încă 15 minute. S-au filtrat microsferele formate și s-au spălat de trei ori cu cîte 30 ml acetonă. S-au uscat la aer pentru îndepărtarea solventului. Microsferele s-au examinat la microscopul optic, constatîndu-se că sînt particule sferice, cu diametrul de 10—20 μm.

Determinarea conținutului de metronidazol al microsferelor. O cantitate de microsfere corespunzătoare la un conținut teoretic de 20% metronidazol s-a cîntărit exact și s-a introdus într-un flacon de sticlă peste care s-au adăugat 100 ml acid clorhidric 5%. S-a păstrat amestecul la etuvă la 60°C timp de 48 de ore. După răcire la temperatura camerei, s-a filtrat, diluat și determinat cantitativ metronidazolul la 277 nm. la un spectrofotometru VSU 2 P Carl Zeiss Jena. Cantitatea de metronidazol determinată a fost 40 mg în 200 mg microsfere.

Protocolul studiului pe șobolani. În studiu s-au folosit două loturi de șobolani albi, cu greutatea de 200 g (±20 g). Șobolanii fiecărui lot au primit o doză unică de 200 mg metronidazol intravenos în vena cozii, sub formă de fosfat de metronidazol (cantitate echivalentă) sau sub formă de microsfere de gelatină cu metronidazol (cantitate echivalentă). Prepararea soluțiilor injectabile s-a făcut cu o soluție de ser fiziologic la care s-a adăugat 1% Tween 80 (în scopul dispersării microsferelor). Din

fiecare lot, s-au făcut sacrificări de cîte 3 animale la următoarele intervale : 5 ; 15 ; 30 ; 60 minute ; 2 ; 3 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ; 12 ore față de momentul administrării dozei unice intravenos. S-a recoltat sîngele, s-a separat serul și s-a determinat cantitativ metronidazolul după o metodă descrisă în literatură (14). Odată cu recoltarea sîngelui, s-au recoltat și plămînii. Aceștia s-au cîntărit, s-au triturat și s-au macerat cu acid clorhidric 5% la 60°C, timp de 48 ore, după care s-a efectuat filtrarea, diluarea și determinarea cantitativă a metronidazolului așa cum s-a descris mai sus.

CALCULUL FARMACOCINETIC

Valorile concentrațiilor metronidazolului în probele de ser și plămîni, s-au evaluat cu ajutorul ecuațiilor modelului farmacocinetic deschis bicompartimentat (15). Calculul constantelor caracteristice s-a făcut cu ajutorul unui calculator numeric Robotron KSR-4100 (R.D.G.). S-au calculat constantele de viteză de schimb între compartimente (k_{12} și k_{21}), precum și parametrii farmacocinetici independenți de model, *clearance*-ul (Cl), volumul de distribuție (V_d) și timpul de înjumătățire biologică ($t_{1/2}$), cu ecuațiile : Cl = Doza/ASC, unde ASC = curba de sub concentrațiile medicamentoase de la timpul 0 la ∞ ; Vd = Cl/β unde β este constanta globală de eliminare ; $t_{1/2} = 0{,}693/\beta$. Biodisponibilitatea relativă (BD) s-a calculat prin împărțirea ASC obținute în cazul a două preparate, și exprimarea procentuală a cîtului : $BD_{relativă}$ (%) = (ASC_{test}/ /$ASC_{standard}$)·100

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În fig. 1 este redată curba concentrațiilor serice ale metronidazolului după o doză unică de 200 mg/kg în cantitate echivalentă de fosfat de metronidazol, administrată intravenos la șobolani, în tabelul I sînt redate constantele farmacocinetice ale metronidazolului după administrarea dozei unice, intravenos, de fosfat de metronidazol echivalentă la 200 mg metronidazol/kg la șobolani.

Se știe din cercetări anterioare (7) și din date din literatură (16) că fosfatul de metronidazol se convertește rapid la metronidazol, sub acțiunea esterazelor, după ce ajunge în circulația sistemică.

Se constată că farmacocinetica metronidazolului în ser poate fi descrisă de o ecuație biexponențială de forma :

$$C = A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$$

în care primul proces este rapid, caracterizat de constanta mixtă de viteză α, după care eliminarea se face mai lent, caracterizată prin constanta globală a vitezei de eliminare β. Distribuția între cele două compartimente se face preferențial în compartimentul periferic, raportul constantelor de viteză de schimb între compartimente (k_{12}/k_{21}) fiind supraunitar. Timpul de înjumătățire biologică $t_{1/2}$ = 2,51 ore. Comparînd constantele farmacocinetice evaluate din concentrațiile medicamentoase în plămîni cu cele bazate pe concentrațiile serice ale metronidazolului, se constată valori asemănătoare, ceea ce dovedește apartenența plămînilor la compartimentul central al modelului farmacocinetic. În fig. 2 sînt

redate curbele concentrațiilor serice ale metronidazolului în ser, și în plămîni, după administrarea la șobolani a unor doze unice de 200 mg metronidazol/kg sub formă de microsfere de gelatină.

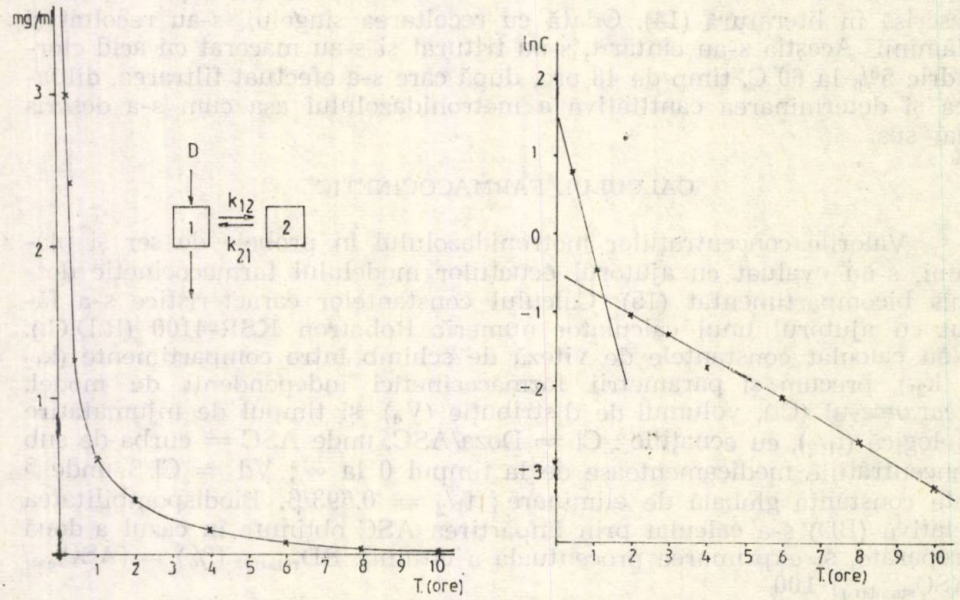


Fig. 1. — Curbele concentrațiilor serice ale metronidazolului în grafic cartezian și semilogaritmic, după o doză unică de 200 mg/kg sub formă de fosfat de metronidazol, în cantitate echivalentă, administrată intravenos la șobolani.

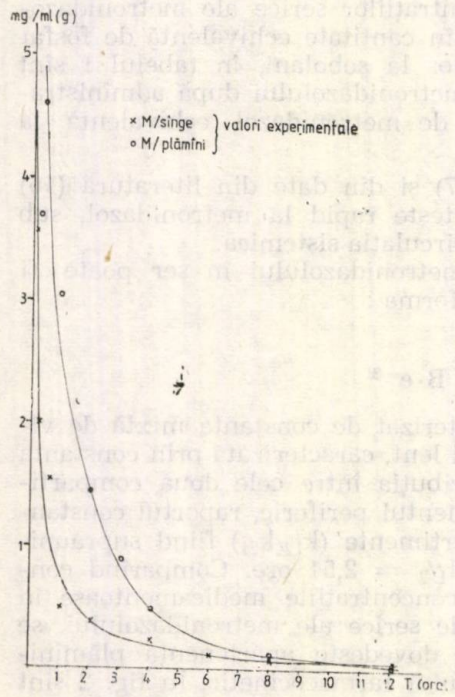


Fig. 2. — Curbele concentrațiilor serice și pulmonare ale metronidazolului după o doză unică de 200 mg/kg sub formă de microsfere de gelatină administrate intravenos la șobolani.

Tabelul I

Constantele farmacocinetice ale metronidazolului după o doză unică de fosfat de metronidazol, administrată intravenos la șobolani, echivalentă cu 200 mg metronidazol/kg

	C_0 (mg/ml)	A (mg/ml)	B (mg/ml)	α (h^{-1})	β (h^{-1})	$t_{1/2}$ (ore)	ASC_0^{10} (mg.ml. h^{-1})	ASC_0^{∞} (mg.ml. h^{-1})	k_{21} (h^{-1})	k_{12} (h^{-1})	k_{12}/k_{21}	Cl (ml/min)	Vd (ml)
Sînge	6,7779	6,1879	0,59	3,465	0,277	2,51	3,46	3,59	0,555	1,455	2,62	11,14	40,2
Plămîni	6,12	5,61	0,51	3,05	0,22	3,15	3,06	3,35	0,50	1,22	2,44	11,9	54,2

Tabelul II

Constantele farmacocinetice ale metronidazolului după administrarea la șobolani a unei doze unice, intravenos, de 200 mg/kg metronidazol sub formă de microsfere din gelatină

	C_0 (mg/ml)	A (mg/ml)	B (mg/ml)	α (h^{-1})	β (h^{-1})	$t_{1/2}$ (ore)	ASC_0^{12} (mg.ml. h^{-1})	ASC_0^{∞} (mg.ml. h^{-1})	k_{21} (h^{-1})	k_{12} (h^{-1})	k_{12}/k_{21}	Cl (ml/min)	Vd (ml)
Sînge	2,6480	2,379	0,268	1,601	0,146	4, 738	2,893	3,211	0,293	0,654	2,23	12,46	85,3
Plămîni	5,4708	5,032	0,438	0,721	0,182	3,814	9,241	9,518	0,225	0,095	0,42	4,32	23,7

În tabelul II sînt redate constantele farmacocinetice ale metronidazolului la șobolani, după o doză unică, intravenos, de 200 mg/kg sub formă de microsfere de gelatină. Se constată că farmacocinetica metronidazolului în ser este asemănătoare cu cea după administrarea precursorului său, esterul fosforic. Totuși, în cazul administrării microsferelor, viteza proceselor este mai mică. Acest fapt este determinat de timpul necesar eliberării substanței medicamentoase din microsferele de gelatină, ceea ce micșorează valoarea constantei de distribuție — eliminare, α, cît și a celei de eliminare. β. Valorile constantelor de schimb între compartimentul central și periferic nu se schimbă (k_{12}/k_{21}), *clearance*-ul rămîne practic nemodificat, deși în cazul timpului de înjumătățire biologică ($t_{1/2}$) se constată o creștere. În schimb crește mult volumul de distribuție, parametru ce depinde de concentrația substanței medicamentoase din ser în comparație cu cantitatea din organism. Într-adevăr, prin reținerea metronidazolului în microsfere mai mult timp, în plămîni, concentrațiile serice devin mai mici în raport cu cantitatea totală din organism. Analizînd farmacocinetica metronidazolului în plămîni, se constată valori mult mai mari ale constantelor C_0, A și B în comparație cu datele serice. Scade însă foarte mult *clearance*-ul (Cl) și volumul de distribuție (Vd), iar raportul constantelor de viteză de schimb între compartimente (k_{12}/k_{21}) devine subunitar, comparativ cu valorile obținute pe baza datelor serice. Aceasta dovedește reținerea unor cantități mari de metronidazol în plămîni, încorporate în microsferele filtrate la nivelul alveolelor pulmonare. Difuzia sa se face lent pe măsura dizolvării matriței polimerului și a particulelor de substanță medicamentoasă. Ca urmare, în plămîni se realizează concentrații superioare celor serice (tabelul III).

Tabelul III

Concentrațiile metronidazolului calculate conform unui model farmacocinetic bicompartimentat în ser și plămîni după administrarea unei doze unice de 200 mg/kg, intravenos, la șobolani sub formă de microsfere de gelatină

Timpul (ore)	*Concentrația (mg/ml)*		*Raport (plămîni/ser)*
	ser	*plămîni*	
0,083	2,35	5,17	2,20
0,25	1,85	4,65	2,49
0,5	1,32	3,91	2,96
1	0,71	2,81	3,95
2	0,29	1,49	5,13
3	0,19	0,83	4,36
4	0,15	0,49	3,26
5	0,13	0,31	2,38
6	0,11	0,21	1,90
8	0,08	0,11	1,37
12	0,04	0,05	1,25

Raportul concentrațiilor metronidazolului plămîni/ser este supraunitar. El crește pînă la de cinci ori în primele 2 ore după administrarea dozei, după care scade pînă la valori egale cu cele din ser, la 8—10 ore după doză. Creșterea valorilor raportului s-ar putea explica prin faptul că difuzia metronidazolului din masa gelatinoasă formată în plămîni, devine mai lentă, din considerente reologice, ceea ce face ca în plămîni

concentrația pe gram de țesut să crească. Ulterior, prin dizolvarea polimerului și substanței medicamentoase, raportul se apropie de unitate. În general, biodisponibilitatea metronidazolului în plămîni este de 319% comparativ cu cea din ser. Aceasta arată că în plămîni se acumulează o cantitate de metronidazol de trei ori mai mare decît în ser, raportarea fiind făcută pe gram de țesut biologic.

În concluzie, administrarea metronidazolului sub formă de microsfere de gelatină de 10—20 μm în diametru, pe cale intravenoasă la șobolani, determină o reținere a microsferelor în plămîni, prin filtrare mecanică, realizînd concentrații medicamentoase la nivelul acestui organ, de cîteva ori mai mari decît cele din ser, raportarea făcîndu-se la aceeași masă de produs biologic. În acest fel se poate realiza o terapie medicamentoasă localizată în care țința să fie o stare morbidă la nivelul pulmonar.

BIBLIOGRAFIE

1. YOSHIOKA T., HASHIDA M., MURANISHI S., SEZAKI H. — *Int. J. Pharm.*, 1981, *8*, 131.
2. TOMLINSON E. — *Int. J. Pharm. Technol. Prod. Manuf.*, 1983, *4*, 49.
3. WIDDER K. J., SENYEI A. E., RANNEY D. R. — *Advanc. Pharmacol. Chemotherap.*, 1979, *16*, 213.
4. POP R. D., LEUCUȚA S. E., CARDAN E. — *Farmacia (Buc.)*, 1985, *33*, 1.
5. LEUCUȚA S. E., POP R. D., CARDAN E., GRASU A., BALOESCU C. — Practica farmaceutică, C-da 8535, 1984, p. 65—71.
6. LEUCUȚA S. E., POP R. D., CARDAN E. — *Farmacia (Buc.)*, 1985, *33*, 7.
7. LEUCUȚA S. E., GHIRAN D., POSTESCU I. D. — date nepublicate.
8. LEUCUȚA S. E. — Preparation and evaluation of gelatin microspheres of metronidazole, FIP Abstracts, 1985.
9. LEUCUȚA S. E. — Controlled release of metronidazole from gelatin microsphere and ethylcellulose coated microcapsules and kinetics of drug release, 5th Symposium of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, Czechoslovakia, May, 1986.
10. LEUCUȚA S. E. — Magnetic micropheres and microcapsules as carriers for intravascular administration of metronidazole, 5th Pharmaceutical Technology Conference, April 1986, Harrogate, England.
11. * * * A 61-a parte a lucrării „Contribuții la cercetarea biofarmaceutică a medicamentelor" (sub red. S. E. Leucuța).
12. * * * — Farmacopeea Română, edit. a IX-a, Ed. Medicală, București, 1976.
13. POSTESCU I. D., MUSTEA I. V. — Brevet de invenție OSIM. nr. 64528, 1977.
14. WELLING P. G., MONRO A. M. — *Arzneimettel-Forsch.*, 1972, *22*, 2 128.
15. LEUCUȚA S. E., POP R. D. — Farmacocinetica, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1981.
16. CHO M. J. KURTZ R. R., LEVIS C., MACHKOVECH S. M., HOUSER D. J. — *J. Pharm Sci.*, 1982, 71, 410.

Articol intrat în redacție la 9.VII.1986.

Indicele de clasificare : 547.784.2:615.415.7—033.616.24—092.9

SUMMARY

S. E. Leucuța, H. Rișca, D. Daicoviciu — INFLUENCE OF METRONIDAZOLE ADMINISTRATION AS GELATINE MICROSPHERULES ON THE PULMONARY PHARMACOKINETICS ON BOLUS INTRAVENOUS ADMINISTRATION IN THE RAT

The authors have investigated the pharmacokinetics of bolus intravenous administration of 200 mg of metronidazole per kg of body weight under the form of gelatine micirospherules with a diameter of 10—20 milimicrons, as well as under the form of metronidazole phosphate. The concentrations of the drug in the

serum and in the lungs can be described with the ecuation of the biocompartimental pharmaceutical model. A pharmacokinetics similar to that of metronidazole in the serum and in the lungs was noted, which follows administration of the soluble salt of the phosporic ester of metronidazole. In contrast, following administration of gelatine microspherules containing metronidazole five times higher concentrations of the drug were found in the lungs, as compared with those found in the serum. The bioavailability is 3 times higher as compared with that in the serum, considering the same mass of biological tissue. The mechanical filtration of the microspherules in the pulmonary tissue can achieve a drug concentration much higher than in the rest of the organism. This was a premise for a localized therapy of disease at the pulmonary level.

РЕЗЮМЕ

С. Е. Леукуца, Р. Ришка, Д. Дайковичу — ВЛИЯНИЯ НАЗНАЧЕНИЯ МЕТРОНИДАЗОЛА В ФОРМЕ МИКРОСФЕР ЖЕЛАТИНА НА ЛЕГОЧНУЮ ФАРМАКОКИНЕТИКУ У БЕЛЫХ КРЫС, ПРИ ВВЕДЕНИИ В НУТРИВЕННО ЕДИНОЙ ДОЗЫ ЭТОГО ПРЕПАРАТА.

Была исследована фармакокинетика метронидазола, вводимого внутривенно белым крысам в единой дозе 200 мг/кг веса тела в форме микросфер желатина диаметром в 10—20μ м и в форме фосфата метронидазола. Лекарственные концентрации в сыворотке крови и в легких могут описываться уравнениями фармакокинетической двухучастковой модели. Установлена сходная фармакокинетика метронидазола в сыворотке и в легких после введения растворимой соли фосфорного эфира метронидазола. Взамен этого, после назначения микросфер желатина с метронидазолом, в легких создаются концентрации лекарства в пять раз больше, чем в сыворотке крови и относительная биологическая способность использования в три раза большая чем в сыворотке и это в соотношении с одинаковой массой биологического препарата.

Механическая фильтрация микросфер в легочной ткани может, таким образом, создавать гораздо более высокую концентрацию лекарства, чем в остальном организме, что является предпосылкой для локализованного лечения болезненных состояний на уровне легких.

Concluziile la cel de-al doilea simpozion de biofarmacie şi farmacocinetică,

30 mai 1986, Cluj-Napoca

Cel de-al doilea Simpozion de Biofarmacie şi Farmacocinetică din 30 mai 1986 de la Cluj-Napoca, a reunit specialiştii din întreaga ţară preocupaţi de cercetarea destinată optimizării formulării medicamentelor şi a îmbunătăţirii terapiei medicamentoase, pe principii farmacocinetice şi biofarmaceutice.

Lucrările prezentate şi discuţiile purtate s-au axat pe următoarele tematici : cercetări biofarmaceutice *in vitro ;* evaluarea biodisponibilităţii substanţelor medicamentoase din preparate farmaceutice ; farmacocinetică experimentală ; farmacocinetică clinică.

Studiile biofarmaceutice *in vitro* au dovedit importanţa unor caracteristici de formulare care să asigure proprietăţi reproductibile ale medicamentelor. S-a evidenţiat necesitatea cunoaşterii solubilităţii substanţei medicamntoase şi a creşterii vitezei de dizolvare a substanţelor greu solubile din formele farmaceutice solide de uz oral (chinidină, stenzamidă, acid acetilsalicilic, săruri coloidale cu argint). S-a relevat totodată necesitatea abordării caracteristicilor de cedare şi în cazul altor forme farmaceutice, şi de stabilire a cineticii procesului de cedare în scopul optimizării sale.

Determinarea biodisponibilităţii substanţelor medicamentoase din preparate farmaceutice a fost apreciată ca un procedeu de control biologic al eficienţei terapeutice pentru medicamente intrate în consum, şi un criteriu de calitate în cazul cercetării unor noi forme farmaceutice.

Comunicările s-au referit la biodisponibilitatea unor substanţe medicamentoase din preparate recent intrate în producţia de medicamente (pentoxifilina în comprimate, progesterona sau estradiolul în unguente) sau aprobate pentru microproducţie (săruri de magneziu în granule ; salazosulfapiridină în comprimate) sau a unor medicamente clasice (digoxina). Cercetarea biodisponibilităţii unor noi forme farmaceutice a abordat comprimatele cu cedare prelungită (clorură de potasiu, lidocaină), comprimate cu microcapsule (acid acetilsalicilic), creme (fluocinolon-acetonid pentru acţiune locală), sisteme cu absorbţie transepidermică a nitroglicerinei (unguente, filme, sistem terapeutic transcutanat).

Se impune în viitor evaluarea biodisponibilităţii atît la produse farmaceutice intrate în consum, în special care conţin substanţe medicamentoase cu indice terapeutic mic, cît şi a noilor forme farmaceutice care se cercetează în vederea transpunerii în producţia industrală.

Cercetarea farmacocinetică experimentală a abordat studiul unor interacţiuni farmacocinetice cu posibile consecinţe clinice (benzodiazepine şi fenobarbital) ; farmacocinetica unor precursori bioreversibili ai metronidazolului, în scopul unei eventuale transpuneri în studiu clinic ; evaluarea unei metode neinvazive de determinare a farmacocineticii digoxinei (măsurarea intervalelor de timpi sistolici) ; s-au comunicat rezultatele cercetării unor noi modalităţi de transport la ţintă a substanţelor medicamentoase ; microsfere de albumină cu adrenamicină, precum şi cinetica dezvoltării unor tumori experimentale după tratament cu microsfere de albumină cu epirubicină.

Farmacocinetica experimentală are un larg cîmp de investigaţie şi ar trebui să preceadă toate cercetările preclinice de introducere a unor noi medicamente.

În domeniul farmacocineticii clinice s-au comunicat rezultatele unor cercetări privind determinarea parametrilor farmacocineticii ai unor substanțe medicamentoase cu indice treapeutic mic (fenitoina, digoxina, chinidina, litiul, lidocaina); farmacocinetica unor substanțe medicamentoase administrate pe căi de administrare de alternativă (metiltestosterona intravaginal, metronidazolul pe cale rectală în doză unică antitricomonazică); farmacocinetica unor substanțe medicamentoase la pacienți cu diferite stări de boală (oxazepam la pacienți cu insuficiență hepatică; prednisonă și prednisolonă la obezi); precum și în intoxicații medicamentoase (amitriptilina). Corelarea datelor farmacocinetice cu observațiile clinice a permis o mai bună alcătuire a schemelor de administrare a medicamentelor în terapia clinică.

In viitor cercetarea farmacocinetică clinică ar trebui extinsă, iar rezultatele ei, cunoscute medicilor terapeuți, să constituie un element indispensabil al unei terapii medicamentoase, în scopul optimizării eficienței și reducerii efectelor adverse.

Cercetările comunicate și discuțiile purtate au fost rodul participării unor specialiști diferiți: farmaciști, medici, chimiști, matematicieni, fizicieni, a căror muncă de calitate a oferit rezultate valoroase pentru practica farmaceutică și medicina clinică.

Continuarea și extinderea cercetărilor în echipe interdisciplinare va fi unica modalitate de dezvoltare în viitor a cercetării biofarmaceutice și farmacocinetice.

Metodologia utilizată în cercetările a căror rezultate s-au comunicat a fost adecvată scopului propus; s-a utilizat spectrometria, calorimetria de înaltă rezoluție; calorimetria diferențială dinamică; absorbția atomică; fotocalorimetria; flamfotometria; spectrofotometria; gazcromatografia; radioimunodozarea.

Dezvoltarea viitoare a cercetării farmacocinetice la noi va depinde în mare măsură de utilizarea unor procedee adecvate, sensibile, specifice și rapide de determinare a concentrațiilor extrem de mici de substanțe medicamentoase în lichidele biologice. Se impune totodată punerea la punct și generalizarea unor metode de control a proprietăților biofarmaceutice ale substanțelor medicamentoase și a formelor farmaceutice, precum și a prelucrării farmacocinetice a datelor experimentale. În scopul utilizării eficiente a rezultatelor obținute, ar fi utilă realizarea unor depozite de date care să constituie o sursă de informare competentă și sistematică a specialiștilor interesați.

Un rol deosebit de important revine unităților de cercetare specializate în lansarea de noi medicamente, precum și industriei de condiționare a medicamentelor de uz uman și veterinar, care ar trebui să introducă în consum produsele farmaceutice numai după ce au fost verificate și sub aspectul biofarmaceutic și farmacocinetic.

Totodată unitățile de control a calității medicamentului ar trebui să elaboreze procedee de control biofarmaceutic la nivel uzinal, precum și prin norme de calitate oficiale pentru produsele farmaceutice.

Scopul cercetării biofarmaceutice și farmacocinetice îl constituie îmbunătățirea formulării medicamentului și a terapiei medicamentoase. De aceea rezultatele acestor cercetări trebuie cunoscute în literatura de specialitate, în simpozioane cu specialiști în domeniul cercetării și utilizării medicamentului, precum și în instruirea viitorilor specialiști, în cursurile universitare, sau a practicienilor prin cursuri de perfecționare postuniversitară.

În acest fel, se va aduce o contibuție însemnată la îmbunătățirea calității medicamentului românesc și a asistenței medico-sanitare în țara noastră.

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Шт. Тэмэшдан, Елена Кристя, Дениза Михеле, Анна Тэтару — Изменения некоторых биохимических констант под влиянием новых производных триазина. *Заметка I* 65

В. Зота, Елена Григореску, Параскива Бырэ, Габриела Пока — Исследования в классе тиазолидинов. *Заметка II* 71

Е. Куря, И. Бан, С. Е. Леукуца, М. Божицэ, Е. Кардан—Влияние наличия буферного вещества и микрокапсуляции таблеток ацетилсалициловой кислоты на быстроту их растворения и биологической способности использования . 75

Дениза Михеле, Елена Кристя, Шт. Тэмэшдан, Анна Тэтару — Изменения некоторых биохимических констант под влиянием новых производных триазина. *Заметка II*. 83

Елена Кристя, Жана Соаре, Ал. Миссир, Иляна Кирицэ, Михаела Динулеску, Домника Енеску — Фармакодинамические исследования в связи с новыми производными тиомочевины. *Заметка II*. 89

Юлияна Попович, *Елиза Гафицяну, Стериана Браха, Флорика Дима, Мария Василеску* — Реологическая характеристика дермэмульсий типа У/А, содержащих лактобионат эритромицина и используемых при лечении пиодермитов. *Заметка II* 97

С. Е. Леукуца — Влияние растворимости и коэффициент распределения флуоцинолон-ацетоника в форме мази-эмульсии/растительное масло в воде/на диффузию *in vitro* и на биологическую способность использования кожей 109

С. Е. Леукуца, Р. Ришка, Д. Дайковичу — Влияние назначения метронидазола в форме микросфер желатина на легочную фармакокинетику у белых крыс, при введении внутривенно единой дозы этого препарата 119

Хроника

Выводы второго Симпозиума Биофармации и Фармакокинетики, 30 мая 1986 г. в городе Клуж-Напока 127

1987 NOV 5

SUMAR

Pag

Șt. Tămășdan, Elena Cristea, Denisa Mihele, Ana Tătaru — Modificările unor constante biochimice sub influența unor noi derivați de triazină. *Nota I* 65

V. Zota, Elena Grigorescu, Paraschiva Birză, Gabriela Popa — Cercetări în clasa tiazolidinelor. *Nota II* 71

E. Curea, I. Ban, E. S. Leucuța, M. Bojiță, E. Cardan — Influența tamponării și a microcapsulării acidului acetilsalicilic în comprimate asupra vitezei de dizolvare și a biodisponibilității 75

Denisa Mihele, Elena Cristea, Șt. Tămășdan, Ana Tătaru — Modificările unor constante biochimice sub influența unor derivați de triazină. *Nota II* 83

Elena Cristea, Jana Soare, Al. Missir, Ileana Chiriță, Mihaela Dinulescu, Domnica Enescu — Cercetări farmacodinamice asupra unor noi derivați de tiouree. *Nota II.* 89

Iuliana Popovici, Eliza Gafițanu, Steriana Braha, Florica Dima, Maria Vasilescu — Caracterizarea reologică a unor dermoemulsii de tip U/A cu lactobionat de eritromicină, utilizate în tratamentul piodermitelor. *Nota II.* 97

S. E. Leucuța — Influneta solubilității și coeficientului de repartiție a fluocinolon-acetonidului în fazele unui unguent-emulsie (ulei în apă) asupra difuziei *in vitro* și a biodisponibilității cutanate 109

S. E. Leucuța, R. Rișca, D. Daicoviciu — Influența administrării metronidazolului sub formă de microsfere de gelatină asupra farmacocineticii pulmonare a unei doze unice intravenoase la șobolani 119

Cronică

Concluziile la cel de al doilea Simpozion de Biofarmacie și Farmacocinetică, 30 mai 1986, Cluj-Napoca 127

„Cititorii din străinătate se pot abona prin ROMPRESFILATELIA sectorul Export-Import presă P. O. Box 12-201 Telex 10376, București, Calea Griviței nr. 64—66".

EDITURA MEDICALĂ

I. P. Informația c. 1042

42 903

Lei 10

E 2159

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMANIA

R 1987 OKT 0 1
Referálva

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

COLEGIUL DE REDACȚIE :

Redactor responsabil :	prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct :	prof. V. STĂNESCU
Secretari responsabili de redacție :	conf. VASILICA ANTONESCU
	prof. ȘT. TĂMĂȘDAN

MEMBRI :

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. APIEȘAN (Cluj-Napoca), prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iași), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iași), conf. Z. FIRȘIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, prof. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, prof. D. OȚELEANU, farm. V. POPOVICI (Timișoara), farm. NICULINA POPA, conf. E. PUȘCARU, conf. N. ȚUCHEL, farm. R. VASILIEV

3

IULIE — SEPTEMBRIE 1987

CONTENTS

Page

Original studies. Experimental researches

P. Petcu, E. Bordaș, Z. Uray, Ecaterina Andronescu, A. Zeic — *Morpho-cytochemic medullary and periferal blood changes induced by chemotherapy in „Tonobil"-treated rats* 129

S. E. Leucuța, D. Poruțiu, M. Polinicencu — *Adriamicine-containing microspherules and microcapsules. Preparation and kinetics of* in vitro *liberation of adriamicine* 133

C Polinicencu, S. E. Leucuța, D. Zdrenghea, Agota Kovats, N. Stăncioiu — *The influence of folrmule on the kinetics of liberation, and on bioavatlability of potassium chloride from tablets with hydrophillic matrix* . 139

Veronica Nacea, Victoria Aldea — *The reducing capacity of clonidine for anorganic oxidants* 149

Eliza Gafițeanu, Iuliana Popovici, Steriana Braha, V. Dorneanu, Iulia Vasiliu, Iuliana Dimofte, Viorica Trandafir — *Collagen-based gels with plant extracts for the treatment of mastoses and mastodinia* 155

Viorica Filipaș, S. E. Leucuța, Maria Aldea, Luminița Vida Simiti — *Kinetics of* in vitro *libertation, and bioavailability of nitroglycerin from lipophylic onguents, from a hydrosoluble polymeric film, and from a transcutaneous therapeutic system* 161

Georgeta Luca, Draga Todorov — *Helebrine, a rapid-acting cardiotonic with prolonged effects* 171

V. C. Noninski, E. B. Sobowale, A. Dryanovska-Noninska — *Anodic polarographic determination of Etamcylate (Dicynone) with the help of the self-cleaning rotating electrode (SRE)* 175

Aurelia Cristea, Elena Bădău, Aurelia Zafindravelo — *1,3-disubstituted compounds of 2-propranolol and propanone, with analgetic effects* . 181

Reviews, surveys

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia

REVISTĂ
A SOCIETĂȚII
DE FARMACIE

Redacția : București, str. Progresului nr. 10, Sectorul I – Telefon 13.89.73 – 14.10.71

VOLUMUL XXXV IULIE 3 SEPTEMBRIE 1987

LUCRĂRI ORIGINALE. CERCETĂRI EXPERIMENTALE

Modificări medulo-sanguine, morfo-citochimice induse prin chimioterapie la șobolani tratați cu „Tonobil"

P. Petcu, E. Bordaș*, Z. Uray, Ecaterina Andronescu, A. Zeic*

Institutul de Medicină și Farmacie, Catedra de Botanică Farmaceutică, Institutul de Igienă și Sănătate Publică, Institutul Oncologic, Cluj-Napoca

REZUMAT

S-a studiat acțiunea medicamentului „Tonobil", pe șobolani albi, în experiment acut de 17 zile, asupra modificărilor medulo-sanguine, induse cu ciclofosfamidă.

Modificările hematologice induse cu ciclofosfamidă, manifestate prin inversarea raportului limfocite/granulocite, reducerea densității celulare medulare, îndeosebi pe seama liniilor eritrocitare, precum și prin scăderea activității enzimatice, sub acțiunea Tonobil-ului au dispărut în totalitate, restabilind proporția limfocite/granulocite, inducînd hiperplazia globală a măduvei, cu regenerare pe toate liniile celulare, iar citochimic creșterea semnificativă a activității enzimatice.

Imunosupresive
Hematologie
Medulla ossium
Experiment

Într-o lucrare anterioară am arătat că scăderea încorporării radiofierului în măduva osoasă indusă de ciclofosfamidă la șobolani albi, crește semnificativ după administrarea medicamentului „Tonobil" (1).

În lucrarea de față ne-am propus studiul acțiunii hematoprotectoare a medicamentului „Tonobil" (2, 3, 4) pe șobolani tratați cu ciclofosfamidă, prin studii medulosanguine, morfo-citochimice.

* Institutul de Igienă și Sănătate Publică, Cluj-Napoca
* Institul Oncologic, Cluj-Napoca

MATERIAL ŞI METODĂ

Experienţele s-au efectuat pe 30 de şobolani albi Wistar, masculi, de 200 ± 10 g, ţinuţi în condiţii de *vivariu*.

Animalele de experienţă au fost împărţite în 3 loturi a cîte 10 animale : I martor tratat cu ser fiziologic ; II tratat cu ciclofosfamidă şi III tratat cu ciclofosfamidă şi „Tonobil".

Lotul martor a fost tratat zilnic cu ser fiziologic intraperitoneal, în doză de 0,5 ml pe zi.

Ciclofosfamidă s-a administrat i.p. în doză de 40 mg/kg animal, timp de 3 zile, în zilele de 4—6 de experienţă.

Medicamentul „Tonobil" s-a administrat per oral cu ajutorul sondei gastrice, în doză de 200 mg/animal, în 1 ml în primele 3 zile (pretratament) şi după intoxicare cu ciclofosfamidă, timp de 5 zile, în zilele de 7—11 (posttratament).

Durata experimentului a fost de 17 zile. Animalele au fost sacrificate prin exanguinare în narcoză cu eter. Pentru determinări hematologice şi enzimatice s-a recoltat măduvă din femur şi sînge din cordocare ; au fost colorate şi prelucrate prin metode clasice. Modificările citoenzimatice au fost urmărite prin peroxidaza, fosfataza alcalină leucocitară, fosfataza acidă, esterazele nespecifice şi prin Negru-Sudan B.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

La lotul martor tratat cu ser fiziologic, tipurile de leucocite au prezentat relaţii normale, traduse prin predominanţa componentei limfocitare (60—75%). Aspectul morfologic a polinuclearelor neutrofile a prezentat o hipersegmentare cu granulare redusă.

Măduva osoasă a prezentat un aspect polimorf, bogată în diferite linii celulare, în diferite stadii de dezvoltare, cu predominanţa granulocitelor şi a precursorilor lor. Citochimic s-a constatat o activitate enzimatică moderat pozitivă (peroxidaza : +, Negru-Sudan B : +, esteraza nespecifică : +, fosfataza acidă : +, fosfataza alcalină leucocitară : 65%) (tabelul I).

Tabelul I

Modificări enzimochimice din măduvă sub acţiunea medicamentului „Tonobil", după intoxicare cu ciclofosfamidă

	Lotul martor	*Lotul tratat cu ciclofosfamidă*	*Lotul tratat cu ciclofosfamidă şi „Tonobil"*
peroxidaza	+	±/−	+/++
Negru-Sudan B	+	±	++
fosfataza alcalină leucocitară	+ (65%)	− − −	++ (peste 200%)
fosfataza acidă	+	− − −	+/++
esteraza nespecifică	+		+/++

La lotul tratat cu ciclofosfamidă, modificările hematologice au constat din inversarea raportului limfocite/granulocite, în sensul creşterii proporţiei de granulocite neutrofile pînă la 64% cu reducerea procentuală a limfocitelor pînă la 30%.

Medular s-a constatat reducerea densităţii celulare, îndeosebi pe seama liniilor eritrocitare şi megacariocitare, precum şi predominanţa

elementelor seriei granulocitare îndeosebi a celor adulte. S-a remarcat depleția limfocitară, plasmocitară și mastocitară, tumefierea și balonarea nucleilor, uneori aderenți la polii membranei celulare, cu aspect histiocitar. Citochimic s-a pus în evidență scăderea activităților enzimatice (peroxidaza : ± / —, reacția PAS : —, Negru-Sudan B : ± și fosfataza alcalină leucocitară : —) (tabelul I).

La examenul sîngelui periferic, lotul tratat cu „Tonobil" a prezentat modificări cantitative și calitative semnificative față de lotul intoxicat cu ciclofosfamidă, manifestat prin restabilirea la normal a proporției de limfocite (72%) și de granulocite neutrofile (28%).

Aspectul medular a indicat o hiperplazie globală, cu regenerarea pe toate liniile mieloide, dar în special pe seria roșie, care a atins valori de 80%. Citochimic s-a constatat creșterea activității enzimatice (peroxidaza : +++, Negru-Sudan B : ++, fosfataza alcalină leucocitară : ++, esteraza nespecifică : +/++ și fosfataza acidă : +/++) (tabelul I).

În urma studiilor hematologice, morfo-citochimice asupra modificărilor medulo-sanguine induse de chimio-terapie (cu ciclofosfamidă), s-a constatat că pre- și posttratamentul cu medicamentul „Tonobil" stimulează semnificativ refacerea medulară și periferică.

Aceste date experimentale prezentate confirmă observațiile privind încorporarea crescută a radiofierului în măduva din femur, sub acțiunea „Tonobil"-ului.

CONCLUZII

1. Modificările hematologice periferice și medulare induse de ciclofosfamidă revin la normal sub acțiunea medicamentului „Tonobil".

2. Această acțiune se confirmă și enzimo-chimic prin creșterea activității enzimatice, la peroxidază, Negru-Sudan B, fosfataza alcalină leucocitară, esteraza nespecifică și la fosfataza acidă.

BIBLIOGRAFIE

1. BORDAȘ E., PETCU P., URAY Z., ANDRONESCU ECATERINA — Acțiunea medicamentelor „Tonobil" și „Regopar" asupra eritropoezei medulare, Sesiunea științifică a Institutului de Igienă și Sănătate Publică, Cluj-Napoca, 3—4 iunie 1986.
2. PETCU P. — *Arch. Pharm.*, 1969, *9*, 680—682.
3. PETCU P., GOINA T. — *Planta Medica*, 1970, *4*, 372—375.
4. PETCU P., BORDAȘ E., ANDRONESCU ECATERINA, BARBU SILVIA — *Farmacia (Buc.)*, 1984, *2*, 87—91.

Articol intrat în redacție la 7.VII.1986.

Indicele de clasificare : 615.771.7—092.259:616.5:616.71—018.46

SUMMARY

P. Petcu, E. Bordaș, Z. Uray, Ecaterina Andronescu, A. Zeic — MORPHO-CYTOCHEMICAL MEDULLARY AND PERIPHERAL BLOOD CHANGES INDUCED BY CHEMOTHERAPY IN RATS TREATED WITH „TONOBIL".

The effects of „tonobil" have been evaluated in an 17 days acute experiment carried out in white rats. Medullary and peripheral blood changes were studied, induced by cyclophosphamide. The hematological modifications induced

with cyclophosphamide, manifested by a reversal of the lymphocyte/granulocyte ratio, reduced numbers of medullary cells — especially of erythrocyte precurssors, and by a decreased enzymatic activity, have completly disappeared following the treatment with Tonobil which induced global hyperplasia of the bonemarrow, and regeneration of all the cell lines. Cytochemically there was a significant increase of enzymatic activity

РЕЗЮМЕ

П. Петку, Е. Бордаш, З. Урай, Екатерина Андронеску, А. Зеик — МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ МЕДУЛЛЯРНЫЕ И КРОВЯНЫЕ РАССТРОЙСТВА, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ХИМИОТЕРАПИЕЙ У БЕЛЫХ КРЫС, ЛЕЧЕННЫХ ПРЕПАРАТОМ „ТОНОБИЛ"

В остром эксперименте, длившемся 17 дней, авторы изучили на белых крысах действие лекарственного препарата „Тонобил" на медуллярные и кровяные расстройства, вызываемые циклофосфамидом.

Обусловливаемые циклофосфамидом гематологические расстройства, состоящие в обратном расположении пропорции лимфоциты (гранулоциты, в уменьшении медуллярной клеточной густоты, в особенности, что касается эритроцитных линий, а также и в понижении энзиматической активности, -под действием Тонобила полностью исчезли, восстанавливаясь пропорция лимфоцитов/гранулоцитов, вызываясь глобальная гиперплазия костного мозга с регенерацией всех клеточных линий, а с цитохимической точки зрения, — отмечаясь значительное повышение энзиматической активности.

RECENZIE

(FLAVONOIDS AND BIOFLAVONOIDS, 1985)
FLAVONOIDE ŞI BIOFLAVONOIDE, 1985

(sub red. L. Farkaş, M. Gábor, F. Kállay, Akadémiai Kiado, Budapesta, 1986)

Sub îngrijirea autorilor L. Farkaş, M. Gábor şi F. Kállay, au fost strînse şi ordonate lucrările celui de al VII-lea Simpozion Maghiar de Bioflavonoide care a avut loc la Szeghed, R. P. Ungară, între 16—18 mai 1985.

Strînse într-un volum prezentabil, xerografiat, lucrările se referă la importantul grup al substanţelor flavonoide de sinteză şi naturale şi îndeosebi la cele cu proprietăţi biologice aplicabile în terapeutică.

Dintre lucrările care se referă la sinteza de substanţe flavonoide remarcăm pe' cele din noul grup al neoflavonoidelor, combinaţii dotate cu activitate analgezică, acţiune care în ultimul timp a generat numeroase studii, ca şi interesantele structuri de piranocromone. De un deosebit interes sînt sintezele de flavanolignane, cum sînt substanţele izolate din fructele de *Sylibum marianum* şi care sînt dotate cu acţiune hepatoprotectoare.

Tot de dată recentă este şi atenţia care se acordă grupului xantonelor, structuri naturale care cîştigă tot mai mult teren şi care au reţinut atenţia şi a sinteticienilor. Se remarcă, prin lucrările publicate şcolile de sinteză de la Budapesta (prof. L. Farkaş) şi de la München (prof. H. Wagner).

Studii fizico-chimice moderne, corelate cu proprietăţile biologice, ale substanţelor studiate, se referă la derivaţii de hidroxietil-rutozid, iar foarte interesanţi sînt complecşii pe care polifenolii naturali îi dau cu alţi metaboliţi de origine vegetală sau animală.

Un grup important de lucrări se referă la studiul flavonoidelor din diverse plante încă nestudiate pînă în prezent, fie că sînt inspirate din medicina tradiţională, fie că se utilizează de mult şi în medicina cultă dar încă nu au fost cercetate sub acest aspect.

Spicuim, de asemenea, studiile de biosinteză a substanţelor flavonoide, în ţesuturile plantelor sau în cloroplaste.

Aparte, se situează cele cîteva lucrări comparative la adresa compoziţiei fenolice şi flavonoidice a propolisului şi a mugurilor de plop. Flavonele cu activitate cardiotonică, de tipul filoflavanului din speciile de Phyllocladus, sau anto-

(Continuare în pag. 156)

Microsfere și microcapsule cu adriamicină : preparare și cinetica cedării in vitro

S. E. Leucuța, D. Porutiu, M. Polinicencu

Facultatea de Farmacie, Laboratorul de Microscopie Electronică, Farmacia Clinicilor, Cluj-Napoca

REZUMAT

În scopul utilizării unor transportori medicamentoși la țintă în terapia antitumorală, s-au preparat microsfere din albumină cu adriamicină și microcapsule ale acestor particule coloidale prin acoperirea cu un film de etilceluloză, avînd caracteristicile unor pulberi cu curgere liberă, cu diametrul mediu al particulelor de 20—30 μm.

S-a cercetat cinetica cedării in vitro a substanței medicamentoase. Microsferele cedează adriamicina după un mecanism al difuziei din matrița sferică a polimerului, în timp ce eliberarea substanței medicamentoase din microcapsule urmează o cinetică de ordinul zero, fiind controlată de permeabilitatea învelișului de acoperire.

Adriamicinum
Farmacocinetică

Un domeniu de interes deosebit în cercetarea medicală și farmaceutică îl constituie transportul la țintă al unor substanțe medicamentoase, în scopul îmbunătățirii profilului terapeutic și al reducerii efectelor secundare adverse ale compușilor bioactivi. Unul din mijloacele prin care se urmărește acest obiectiv îl constituie folosirea particulelor coloidale, microsfere sau microcapsule, care după administrare intravasculară pot fi reținute, în funcție de mărimea lor și calea de administrare, în diferite organe, plămîni, ficat, splină, sau la nivelul primului pat vascular întîlnit, unde vor elibera substanța medicamentoasă încorporată la prepararea lor (1—3).

Localizarea acțiunii substanței medicamentoase și cedarea prelungită pot fi asigurate prin încorporarea unor substanțe medicamentoase în mocrosfere de albumină. Albumina constituie un material avantajos la prepararea microsferelor, ținînd seama de accesibilitatea și posibilitatea biodegradări după administrare în organism (4).

Dintre substanțele care s-ar preta unei administrări localizate cu ajutorul unor transportori coloidali, se numără citotoxicele utilizate în chimioterapia cancerului, care au un indice terapeutic mic și o toxicitate sistemică ridicată (5, 6).

Din aceste considerente ni s-a părut avantajoasă formularea unor microsfere medicamentoase cu diametrul mai mare de 8 μm, cît este dia-

metrul maxim al capilarelor, spre a fi localizate pasiv în patul vascular al unor organe purtătoare de tumori, sau filtrate la nivelul plămînilor, un alt organ în care se pot dezvolta tumori.

În această lucrare s-au preparat microsfere din albumină cu adriamicină, precum și microcapsule prin învelirea microsferelor cu o membrană de etilceluloză, și s-a studiat cinetica cedării adriamicinei *in vitro* din transportorii coloidali preparați (7).

MATERIAL ȘI METODE

Materiale

Adriamicina s-a folosit din flacoane cu pulbere liofilizată, conținînd 10 mg clorhidrat de doxorubicină (Adriblastina, Farmitalia, Carlo Erba). Albumina de ou s-a obținut de la Fabrica de Praf de Ouă, Arad. Etilceluloza a fost de puritate farmaceutică (8). Reactivii au fost de calitate puritate absolută.

Prepararea microsferelor

Metoda folosită se bazează pe procedeul denaturării termice a proteinei (9). 500 mg albumină de ou s-au dizolvat în 0,5 ml apă, peste care s-au adăugat 10 mg adriamicină dizolvată în 0,5 ml apă. Soluția s-a adăugat în picături, cu ajutorul unei seringi, peste 100 ml ulei de floarea soarelui care conține 1% Span 80, sub agitare energică, timp de 20 de minute. S-a încălzit apoi amestecul la 100°C, menținînd această temperatură timp de o oră. S-a lăsat să se răcească, continuînd agitarea, apoi răcirea s-a făcut la 5°C (punînd gheață în baia de apă). S-au adăugat 100 ml eter de petrol și s-au separat microsferele prin centrifugare la 4 000 rpm. S-au spălat microsferele de trei ori cu eter de petrol, apoi cu izopropanol. Suspensia în izopropanol s-a filtrat prin sita cu diametrul ochiurilor de 60 μm. S-a efectuat apoi o sedimentare diferențială a particulelor la centrifugă, la 500 rpm., pentru izolarea particulelor mai mari. Fracțiunea de particule cu diametrul de 20—30 μm s-a utilizat în cercetările de cedare *in vitro*.

Prepararea microcapsulelor

Microcapsulele s-au preparat prin metoda separării de faze descrisă în literatură (10—13). O cantitate de etilceluloză (30, 45, sau 90 mg) și polietilenă (60, 80 sau 160 mg) s-a dizolvat la 70°C în 30 ml ciclohexan, sub agitare. S-au dispersat apoi în soluție 100 mg microsfere de albumină cu adriamicină, sistemul s-a încălzit pînă la 78°C, menținîndu-se astfel 10 minute, după care s-a răcit, treptat, încet, la temperatura camerei, iar apoi la 10°C, cu gheață într-o baie de apă, timp de 30 de minute. În timpul răcirii a avut loc separarea fazelor. Supernatantul s-a decantat, microcapsulele s-au spălat cu ciclohexan și ciclohexan cu 1% ulei vegetal hidrogenat, apoi s-au separat și uscat la aer.

Analiza granulometrică s-a efectuat microscopic cu ajutorul unui ocular etalonat. S-a utilizat microscopia optică de transparență pentru evaluarea mărimii și formei microsferelor.

Microscopia electronică s-a realizat cu un microscop electronic tip Hitachi HV 11 A, tensiune de accelerare 50 KV, imaginea obținîndu-se

prin transmisie. Preparatul s-a realizat prin depunerea unei suspensii apoase de microsfere pe grilă.

Determinarea conținutului de adriamicină în microsfere și microcapsule

O cantitate de 50 mg microsfere s-a macerat în 10 ml apă conținînd 50 mg tripsină timp de 24 de ore. Adriamicina s-a extras apoi cu un amestec de cloroform-isopropanol (2:1), s-a separat faza organică, care s-a evaporat la sec. Reziduul s-a reluat cu apă și s-a determinat cantitativ adriamicina. În cazul microcapsulelor, s-a dizolvat o cantitate cunoscută (5 mg) în cloroform (1 ml). Adriamicina s-a extras după tehnica descrisă mai sus din microsferele fără înveliș.

Determinarea cantitativă a adriamicinei s-a făcut spectrofotometric în UV la 233 nm ($E^{1\%}_{1cm}$ = 605,4) folosind ca martor apa distilată.

Studiul cedării in vitro *a adriamicinei din microsfere și microcapsule*

O cantitate de microsfere sau microcapsule, corespunzătoare unui conținut de cca 0,2 mg adriamicină, s-a dispersat în 20 ml apă distilată la 37°C. Mediul de dizolvare s-a agitat cu ajutorul unui agitator magnetic. La diferite perioade de timp s-au prelevat probe de 2 ml, care s-au filtrat, iar conținutul în adriamicină s-a determinat în UV la 233 nm. Soluția prelevată s-a înlocuit cu solvent.

Cinetica cedării adriamicinei din microsfere și microcapsule s-a studiat în funcție de diferite legi care controlează mecanismele de cedare.

Cinetica de ordinul întîi. Conform cineticii de ordinul întîi, cantitatea de substanță, Q, cedată poate fi exprimată astfel : $Q = Q(1-e^{-k.t})$ unde Q_0 este cantitatea inițială în microsfere ; forma logaritmică și diferențială permit liniarizarea : $\ln (Q_0-Q)=\ln Q_0-k.t$; $dQ/dt=kQ_0-k.Q$, din panta dreptelor obținînd valoarea constantei de viteză.

Mecanismul difuziei din matriță se bazează pe ecuația lui Higuchi (14, 15) privind transferul controlat de difuzie în matrița plană a unui polimer :

$$Q = \left[\frac{\varepsilon}{\tau} D(2A-\varepsilon . C_s)C_s . t \right]^{1/2}$$

unde ε este porozitatea, τ este tortuozitatea matriței, C_s este solubilitatea, iar D este coeficientul de difuzie al substanței. În cazul matriței omogene, $Q = k' . t^{1/2}$, unde k' este constanta de viteză. În acest caz, funcțiile $Q = f(t^{1/2})$; $dQ/dt = f(1/Q)$ și $\ln Q = f(\ln t)$ vor fi drepte din a căror pantă se poate calcula k'.

În cazul matriței sferice, cedarea este descrisă de eucația (16) : $3/2 [1-(1-F)^{2/3}]-F=k.t$ unde F = cantitatea cedată la timpul t. Reprezentarea funcției $3/2[1-(1-F)^{2/3}] = f(t)$ va da o dreaptă.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În tabelul I sînt redate cîteva caracteristici ale microsferelor și microcapsulelor preparate. În cazul ambelor formulări se obțin particule sferice, care prezintă o curgere liberă (fig. 1, 2). Menținerea nemodifi-

cată a condițiilor de preparare duce la obținerea unor șarje cu caracteristici asemănătoare. Unii dintre cei mai importanți factori care asigură gradul de dispersie dorit sînt viteza de agitare și conținutul de tensioactiv. Evitarea aderării particulelor se poate face respectînd gradientul de temperatură și durata încălzirii, în diverse etape menționate la material și metode.

Tabelul I

Caracteristici ale microsferelor de albumină și microcapsulelor cu înveliș de etilceluloză avînd încorporată adriamicină

	Cantitatea preparată		*Conținut în adriamicină*		*Etilceluloză (%)*			*Mărimea particulelor (μm)*	
	teoretic (g)	*rezultată (%)*	*teoretic (%)*	*găsit (%)*				*limite*	*media*
Microsfere	0,5	80	2	1,91	—	—	—	1—100	25
Microcapsule	0,1	80	2	1,75	0,1	0,15	0,30	1—40	30

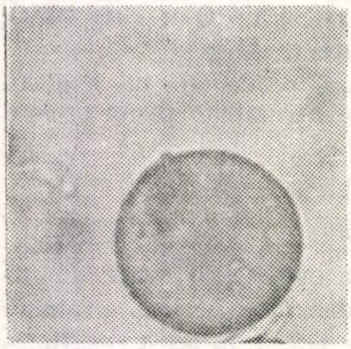


Fig. 1 — Microsferă de albumină cu adriamicină (microscopie optică) (1 mm pe fotografie = 1,28 μm în realitate).

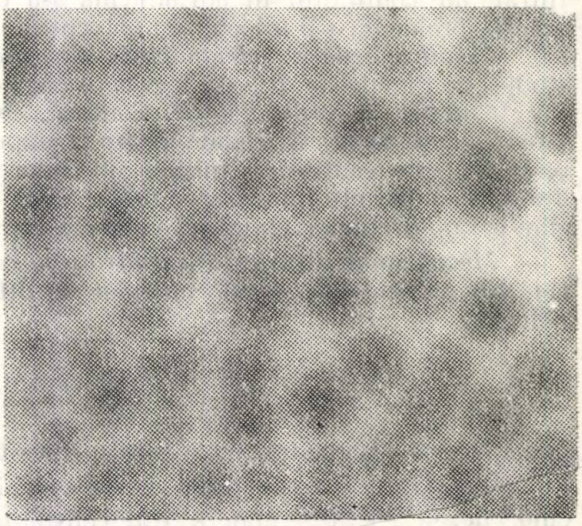


Fig. 2 — Microsfere de albumină cu adriamicină (microscopie electronică prin transmisie) (1 mm pe fotografie = 160 mm în realitate).

În figura 3 sînt redate curbele de cedare *in vitro* a adriamicinei din microsferele și microcapsulele cercetate.

În cazul microsferelor se constată o cedare de aproximativ 50% în primele 3 ore, după care viteza de cedare devine mult mai mică.

La 24 de ore mai rămîne în microsfere un procent de cca 30% din conținutul inițial de adriamicină.

În cazul microcapsulelor, eliberarea adriamicinei este mult mai redusă decît în cazul microsferelor.

Pentru elucidarea mecanismului de cedare, datele experimentale s-au prelucrat cu toate metodele descrise la modul de lucru. În cazul microsferelor, atît funcția $\ln(100-Q) = f(t)$, cît și $dQ/dt = f(Q)$ nu sînt drepte (fig. 4, 5) ceea ce arată că mecanismul cedării nu e conform cu o cinetică de ordinul întîi. Regresia liniară a perechilor de valori timp — adriamicina dizolvată procentual, este conformă cu ecuația

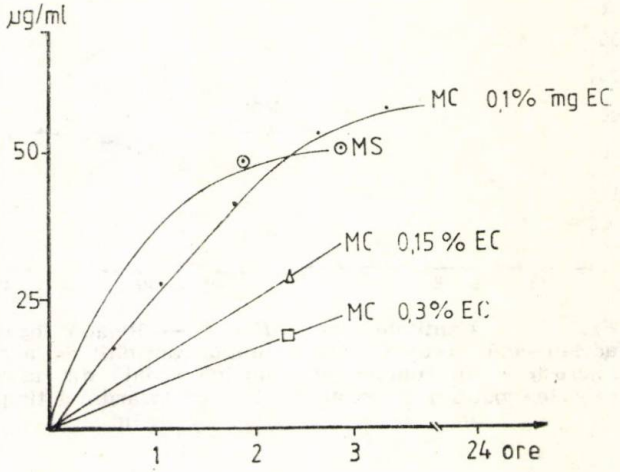


Fig. 3 — Curbele de cedare *in vitro* a adriamicinei din microsfere de albumină și microcapsule cu înveliș de etilceluloză de diferite grosimi.

$Y = 0{,}217\ (\pm 0{,}083)\ X + 14{,}97\ (\pm 7{,}84)$ cu următorii indici de corelare : $r = 0{,}933$; $F = 67$; $EV = 80{,}6$, ceea ce arată o slabă corelare. Prelucrarea datelor conform legii difuziei prin matriță a arătat că funcția $dQ/dt = f(1/Q)$ este o dreaptă (fig. 6), totuși funcțiile $Q = f(t^{1/2})$ (fig. 7), cît și $\ln Q = f(\ln t)$ (fig. 8) au prezentat liniaritate numai în domeniul concentrațiilor mici, porțiunea finală corespunzînd unei cantități de

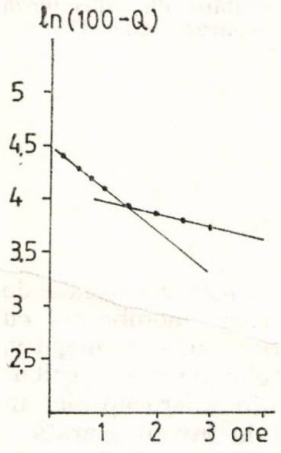


Fig. 4 — Logaritmul cantității de adriamicină neeliberată din microsfere în funcție de timp.

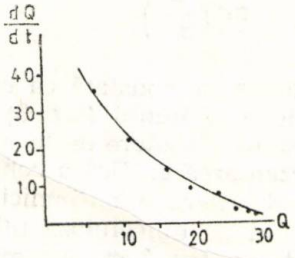


Fig. 5. — Viteza de cedare a adriamicinei din microsfere în funcție de cantitatea eliberată.

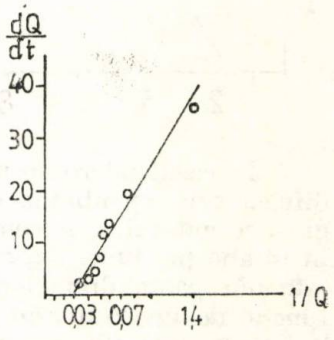


Fig. 6 — Viteza de cedare a adriamicinei din microsfere în funcție de inversul cantității eliberate.

substanță cedată de peste 50%, prezentînd o deviere negativă de la liniaritate. În schimb, modelul de dizolvare dintr-o matriță sferică s-a dovedit corespunzător cineticii de cedare a adriamicinei din formularea preparată (fig. 9).

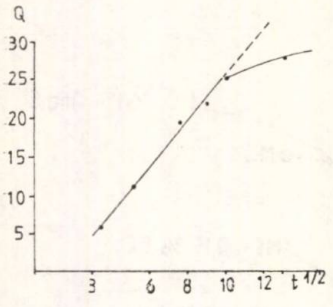


Fig. 7 — Cantitatea de adriamicină cedată din microsfere în funcție de rădăcina patrată a timpului.

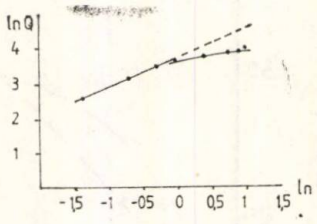


Fig. 8 — Relația logaritmului cantității de adriamicină cedată din microsfere cu logaritmul timpului.

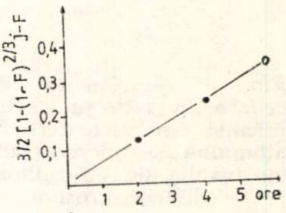


Fig. 9 — Cedarea adriamicinei din microsfere în conformitate cu ecuația de difuzie într-o matriță sferică.

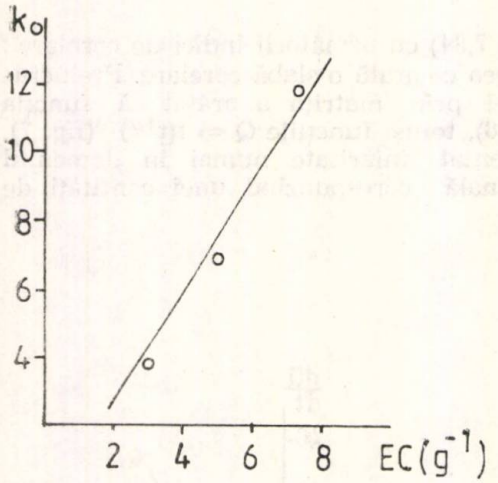


Fig. 10 — Relația constantei de difuzie a adriamicinei din microcapsule cu inversul cantității de etilceluloză utilizat la învelirea microsferelor.

În cazul microcapsulelor, se constată că cedarea este controlată de difuzia prin membrana de etilceluloză (fig. 3). În cazul membranei cu grosime mai mică, se constată o abatere de la liniaritate, în sens negativ, în ultima porțiune. Reprezentarea grafică a constantelor de viteză calculate din panta dreptelor decedare a adriamicinei din microcapsule, în funcție de inversul cantității de etilceluloză utilizat la învelire, arată o liniaritate (fig. 10). Aceasta confirmă mecanismul de cedare conform cu teoria difuziei din matriță, controlat de grosimea membranei de acoperire a microcapsulelor.

Bibliografia la autori.

Articol intrat în redacție la 9.VII.1986

Indicele de clasificare : 616.771.7—012—033—092.254

Influența formulării asupra cineticii eliberării și a biodisponibilității clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă

C. Polinicencu, S. E. Leucuța, D. Zdrenghea *, Agota Kovats **, N. Stăncioiu *

Facultatea de farmacie, Clinica de cardiologie *, Institutul de igienă și sănătate publică **, Cluj-Napoca

REZUMAT *S-a cercetat influența formulării asupra cedării* in vitro *și a biodisponibilității clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă conținînd Carbopol 940. Determinarea concentrațiilor potasiului* in vitro *s-a făcut prin spectrometrie de absorbție atomică, iar în probele biologice (ser, urină) flam fotometric. S-a constatat că cedarea clorurii de potasiu din comprimate urmează legea difuziei din matriță, fiind proporțională cu rădăcina pătrată a timpului, în domeniul concentrațiilor de 20—80%. Viteza de cedare scade cu creșterea proporției polimerului în matriță, cu creșterea forței de comprimare, la asocierea hidroxipropilcelulozei și prin creșterea pH-ului mediului și este puțin influențată de granulometria substanței medicamentoase. Biodisponibilitatea clorurii de potasiu dintr-o formulare experimentală de comprimate cu matriță hidrofilă administrată în doză unică de 48 mEq K^+, la subiecți umani, este similară cu a unei doze echivalente de clorură de potasiu sub formă de soluție, dar viteza de absorbție este mai mică și prelungită.*

Kalium chloratum
Comprimate
Farmacocinetică

Administrarea de clorură de potasiu este considerată drept cea mai eficientă terapie de substituție pe cale orală a stărilor de hipopotasemie care sînt de obicei însoțite și de o alcaloză prin deficiență de clor (1—3). Soluția de clorură de potasiu are un gust neplăcut, iar comprimatele de clorură de potasiu produc efecte secundare în tractul gastrointestinal, în special ulcerații (4—7). Dacă eliberarea clorurii de potasiu se face cu o viteză constantă, pe o durată mare de timp, în tractul gastrointestinal, efectele secundare pot fi reduse la minimum. Comprimatele cu cedare prelungită a clorurii de potasiu au o viteză de dizolvare mică, ceea ce duce la o concentrație considerabil redusă a substanței medicamentoase în tubul digestiv și în consecință, la o frecvență redusă a reacțiilor adverse (8, 9). Micșorarea vitezei de cedare a clorurii de potasiu se poate realiza cu ajutorul comprimatelor cu matriță inertă, matriță lipofilă sau matriță hidrofilă, ori prin acoperirea cristalelor cu un film polimeric insolubil în apă, dar poros (10—13).

Utilizarea unor matrițe hidrofile pentru prelungirea eliberării substanțelor medicamentoase din comprimate a fost studiată de diferiți cercetători, fie sub aspectul polimerilor hidrofili utilizați (14), fie a mecanismului cedării (15, 16). În cazul comprimatelor de clorură de potasiu cu matriță hidrofilă din hidroxipropilmetilceluloză s-a constatat că cinetica eliberării urmează difuzia descrisă de Higuchi (16) pentru matrițe inerte (15, 17, 18).

În această lucrare s-a cercetat influența unor variabile tehnologice ca natura și cantitatea agentului hidrofil, forța de comprimare, asocierea de ioni polimeri, comprimarea directă sau după granulare umedă, influența pH-ului mediului de dizolvare asupra vitezei de dizolvare *in vitro* a clorurii de potasiu din comprimate experimentale cu matriță hidrofilă constituită dintr-un polimer carboxivinilic (Carbopol 940), precum și biodisponibilitatea unei formulări de comprimate experimentale cu matriță hidrofilă administrată în doză unică de 48 mEq K^+ comparativ cu o soluție de clorură de potasiu, la subiecți umani voluntari (19).

MATERIAL ȘI METODE

Materii prime. S-a folosit clorura de potasiu de calitate farmaceutică (20). Pulberea s-a utilizat în diferite clase granulometrice, obținute prin sortare cu site standardizate (DIN, D.D.R.). Polimerii hidrofili utilizați au fost Carbopol 940 (Goodrich Chemical Company), polivinilpirolidonă (K 30 Kollidon) și hidroxipropilceluloză (Klucel).

Prepararea comprimatelor. Clorura de potasiu, pulverizată și sortată : se amestecă cu Carbopol 940 cu polivinilpirolidonă (0,075 g/comprimat) și cu stearat de magneziu (0,025 g/comprimat) ; se omogenizează amestecul obținut și se granulează cu cloroform. Granulatul obținut, după uscare la temperatura obișnuită și uniformizare prin sita IV (F.R. IX), se comprimă cu o mașină cu excentric obținîndu-se comprimate de 0,8—1,3 g. În cazul comprimării directe, materialul de comprimat se brichetează în prealabil.

Studiul cedării in vitro. S-a folosit un dispozitiv Erweka ZT-2 utilizat la studiul dezagregării comprimatului. Mediul de dizolvare a fost apa distilată, 2 500 ml, la 37 $\pm$ 2°C. Agitarea mediului s-a făcut cu ajutorul coșului oscilant, cu o deplasare de 22 m. Comprimatul de cercetat s-a plasat la fundul vasului, într-o celulă de dizolvare constituită dintr-un recipient de sticlă, rotund, cu diametrul de 10 cm, înălțimea de 1 cm, în care s-a fixat comprimatul într-un mediu de parafină fluidificată. După solidificare, numai o față a comprimatului a rămas expusă la mediul de dizolvare, permițînd aplicarea ecuației Higuchi (16) la studiul cineticii eliberării substanței active din matrița hidrofilă. Din mediul de dizolvare s-au prelevat periodic probe care s-au filtrat, diluat și determinat cantitativ.

Cinetica eliberării. Valorile procentuale ale cantității de clorură de potasiu dizolvată în timp (q) s-au reprezentat grafic în funcție de rădăcina patrată a timpului exprimat în minute : $q = f(t^{1/2})$, cînd s-au obținut drepte descrise de relația liniară $q = k.x + C$, unde k = viteza de dizolvare, $x = t^{1/2}$, C = constantă. Profilele de dizolvare liniarizate au permis calcularea timpului de latență (t_{lat}) prin extrapolarea dreptei la abscisă, precum și a timpului de dizolvare $t_{50\%}$ a clorurii de potasiu.

Protocolul studiului de biodisponibilitate. S-a folosit un lot de 4 subiecți voluntari, sănătoși, între 23 și 42 de ani cărora li s-a făcut examinare clinică și de laborator (sînge, urină, inclusiv electroliți). Subiec-

ții nu au primit vreo altă medicație cu patru săptămîni înaintea studiului și nici pe durata acestuia. Înaintea studiului s-a stabilit nivelul staționar de electroliți prin dozări repetate, timp de 4—7 zile. Fiecare subiect a primit o doză de 48 mEq potasiu sub formă de soluție apoasă (36 ml dintr-o soluție 10%) și sub formă de comprimate cu cedare prelungită (8 comprimate de 600 mg clorură de potasiu), în două ocazii diferite, la interval de o săptămînă. S-au recoltat probe de sînge la 0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 3 ; 5 ; 8 și 12 ore și s-a separat serul. S-a recoltat urina pe 24 de ore, fracționat, pe următoarele intervale : 0—1 ore ; 1—3 ore ; 3—5 ore ; 5—8 ore ; 8—12 ore ; 12—24 ore. S-a măsurat volumul, iar într-o porțiune s-a efectuat determinarea cantitativă.

Determinarea cantitativă a potasiului. În probele de dizolvare *in vitro* potasiul s-a determinat cantitativ cu un spectrofotometru de absorbție atomică Perkin-Elmer 300, față de un etalon de clorură de potasiu. Probele biologice s-au determinat la un flamfotometru Zeiss.

Analiza farmacocinetică a datelor. S-a realizat cu ajutorul ecuațiilor caracteristice modelului monocompartimentat (21).

Calculul numeric și statistic. S-a făcut cu ajutorul unui calculator numeric KSR-4100 Robotron (R.D.G.).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În figura 1 sînt redate cantitățile de clorură de potasiu eliberate în funcție de rădăcina pătrată a timpului din comprimate, formulate cu proporții diferite de polimer hidrofil, menținînd constantă cantitatea de clorură de potasiu din comprimate și forța de comprimare. Se constată că eliberarea substanței medicamentoase din matriță este liniară între aproximativ 30 și 70% din conținutul comprimatelor în clorură de potasiu. Odată cu creșterea procentului de excipient, raportat la greutatea comprimatului, viteza de eliberare scade. În tabelul I sînt redate ecuațiile dreptelor de regresie pentru procesele de dizolvare a clorurii de potasiu din matrițe, în funcție de procentul de polimer hidrofil. Se remarcă o creștere a vitezei procesului cu scăderea proporției de polimer

Tabelul I

Ecuațiile dreptelor de regresie ale proceselor de eliberare a clorurii de potasiu din matrițe în funcție de proporția excipientului hidrofil (indici statistici : r = coeficient de corelare liniară ; F = testul Fischer ; EV = varianta explicată)

Proporția de polimer în comprimat (%)	*Ecuația dreptei de regresie* $Q = A.X + B (\pm D.S)$	*Indici statistici*		
		r	*F*	*EV*
15	$Q = 0{,}306(\pm 0{,}04)t^{1/2} + 21{,}0(\pm 4{,}03)$	0,9914	19	96
25	$Q = 0{,}241(\pm 0{,}016)t^{1/2} + 18{,}3(\pm 2{,}42)$	0,9976	138	99
33	$Q = 0{,}159(\pm 0{,}006)t^{1/2} + 23{,}4(\pm 1{,}3)$	0,9991	575	99
40	$Q = 0{,}113(\pm 0{,}013)t^{1/2} + 27{,}8(\pm 3{,}2)$	0,9934	75	98
45	$Q = 0{,}069(\pm 0{,}007)t^{1/2} + 29{,}8(\pm 2{,}2)$	0,9944	89	98
50	$Q = 0{,}058(\pm 0{,}003)t^{1/2} + 27{,}7(\pm 1{,}01)$	0,9986	235	99

în comprimate. Acest fapt se explică prin creșterea suprafeței efective ocupate de clorura de potasiu, care crește odată cu scăderea conținutului excipientului.

În fig. 2 sînt redate profilurile de cedare a clorurii de potasiu din comprimate în funcție de granulometria particulelor substanței medicamentoase încorporate. Se constată că mărimea particulelor substanței me-

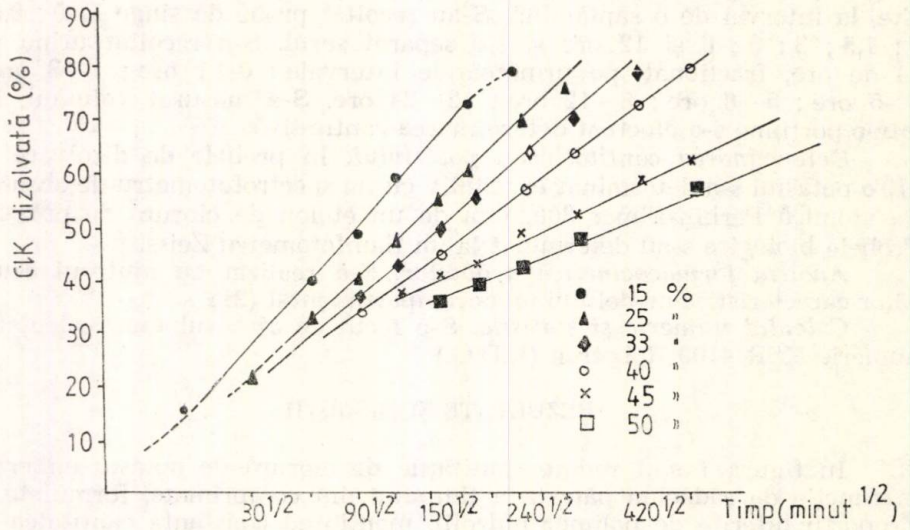


Fig. 1 — Influența procentului de excipient hidrofil din comprimate asupra cantității de clorură de potasiu eliberată *in vitro* în funcție de rădăcina pătrată a timpului.

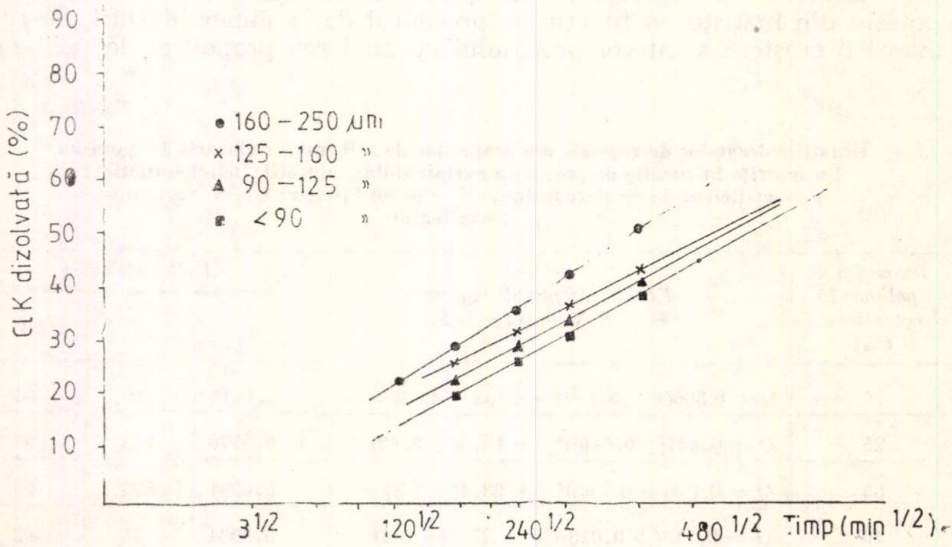


Fig. 2 — Influența mărimii particulelor de clorură de potasiu încorporate în comprimatele cu matriță hidrofilă asupra profilului de cedare *in vitro*.

dicamentoase nu influențează semnificativ viteza de dizolvare, pantele dreptelor fiind asemănătoare. Se remarcă totuși un timp de dizolvare $t_{50\%}$ mai redus în cazul particulelor mai mari, probabil din cauză că acestea nu sînt complet învelite cu polimerul hidratat.

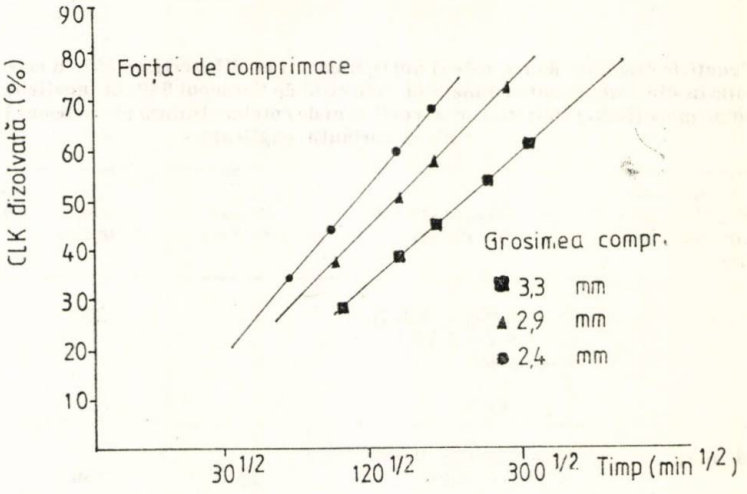


Fig. 3 — Influența forței de comprimare utilizată la prepararea comprimatelor (măsurată prin grosimea comprimatelor) asupra vitezei de cedare *in vitro* a clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă.

În figura 3 se arată influența forței de comprimare asupra profilurilor de cedare *in vitro* a clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă, iar în tabelul II sînt ecuațiile dreptelor de regresie pentru procesul dizolvării în cele trei cazuri : presiune mică, medie și mare. S-a lucrat cu trei forțe de comprimare diferite, asupra unei mase alcătuite din aceleași cantități ale amestecurilor clorurii de potasiu și Carbopolului, rezultînd comprimate cu grosimi diferite, dependent de forța de comprimare aplicată : 3,3 mm în cazul presiunii mici, 2,9 mm în cazul presiunii medii și 2,4 mm în cazul presiunii mari. Se constată că vitezele de cedare sînt asemănătoare, totuși, odată cu creșterea forței de comprimare scade viteza de dizolvare și se reduce timpul de latență (t_{lat}) și timpul de dizolvare $t_{50\%}$ (tabelul II). Comprimatele supuse unei forțe mici de comprimare lasă o porozitate mai mare, ceea ce permite apei să pătrundă mai ușor ; se creează însă un gel vîscos care întîrzie cedarea substanței active. Acest comportament este ilustrat și de cantitatea de lichid care este absorbită de comprimate în 30 secunde (tabelul II).

În figura 4 se redau profilurile de dizolvare a clorurii de potasiu din comprimate a căror matriță hidrofilă a fost alcătuită prin asocierea a doi polimeri : Carbopol 940 și Klucel (hidroxipropilceluloză), iar prepararea comprimatelor s-a făcut prin comprimare directă după o prealabilă brichetare și prin granulare umedă cu cloroform sau amestec de cloroform și alcool în părți egale. În tabelul III sînt redate ecuațiile dreptelor de regresie pentru procesul de viteză a cedării. Asocierea hidroxipropilcelulozei cu Carbopolul, care a rămas în proporție predominantă, micșorează mult viteza de cedare *in vitro* în comparație cu cea din comprimatele

conținînd numai Carbopol în cantitate egală cu asocierea menționată a polimerilor. De asemenea, se poate remarca micșorarea vitezei de cedare *in vitro* a clorurii de potasiu sub influența granulării umede cu cloroform.

În literatură este semnalată creșterea vîscozității gelurilor de Carbopol în prezența hidroxietilcelulozei (22, 23). În figura 5 sînt redate profilurile de cedare a clorurii de potasiu din comprimate cu Carbopol,

Tabelul II

Ecuațiile dreptelor de regresie și unii parametri ai eliberării *in vitro* a clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă de Carbopol 940, în funcție de forța de comprimare (indici statistici : r = coeficient de corelare liniară ; F = testul Fischer ; EV = varianța explicată)

Forța de comprimare exprimată prin grosimea comprimatului (mm)	*Ecuația dreptei de regresie*	*$t_{latență}$ (minute)*	*$t_{50\%}$ (minute)*	*Cantitatea de apă absorbită după 30 sec (mg)*
mică (3,3 mm)	Q = 0,283(± 0,026) + + 16,8 (± 3,36) r = 0,9957 F = 38 EV = 98	54	250	15
medie (2,9 mm)	Q = 0,205 (± 0,018) + + 18,7(± 3,1) r = 0,9961 F = 85 EV = 98,7	13,5	150	3
mare (2,4 mm)	Q = 0,156(± 0,011) + + 13,9 (± 2,28) r = 0,9976 F = 135 EV = 99	11	115	1

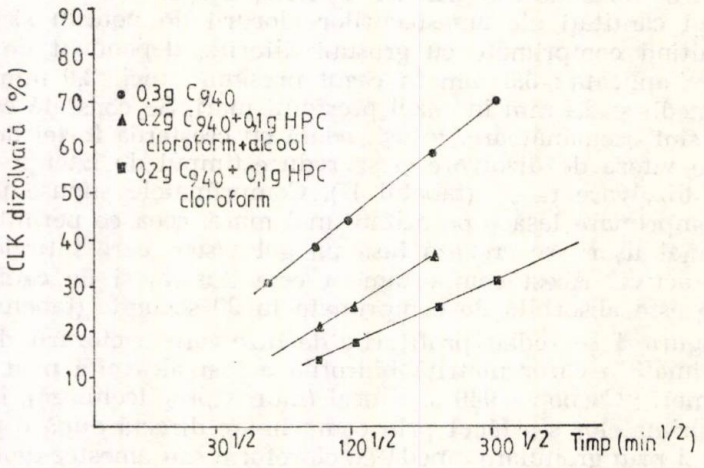


Fig. 4 — Influența asocierii a doi polimeri hidrofili cu rol de matriță a comprimatelor, precum și a modului de granulare asupra profilurilor de cedare *in vitro* a clorurii de potasiu.

în medii cu pH diferit. În experimentul efectuat, același comprimat, după ce a fost menținut la pH = 1,0 timp de 2 ore, este transferat în mediu alcalin, la pH = 8,0 și menținut timp de două ore și jumătate. În figura 5 se constată că odată cu creșterea pH-ului mediului de dizolvare, crește timpul de dizolvare $t_{50\%}$, precum și timpul de latență $t_{lat.}$ Viteza de difuzie scade cu creșterea pH-ului. Aceste observații sugerează o micșorare tranzitorie a vitezei de cedare *in vivo* odată cu traversarea comprimatului din stomac în intestin, ca urmare a gelificării polimerului, după care procesul de difuzie continuă cu o viteză apropiată de cea inițială.

Rezultatele cercetării biodisponibilității clorurii de potasiu din formulările experimentale sînt redate în figurile 6 și 7, în care sînt reprezentate nivelele medii ale potasiului seric, normalizat față de valoarea

Tabelul III

Ecuațiile dreptelor de regresie ale cedării clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă alcătuită din Carbopol 940 și din asocierea Carbopol 940 + Klucel (Hidroxipropilceluloză)

Matrița hidrofilă	*Ecuația dreptei de regresie*	*Indici statistici*		
		r	*F*	*EV*
Carbopol 940	Q = 0,1598(± 0,0066) + + 23,4(± 1,3)	0,9991	575	99,7
Carbopol 940 + Klucel	Q = 0,0825(± 0,0076) + + 7,5(± 1,49)	0,9957	116	98,7

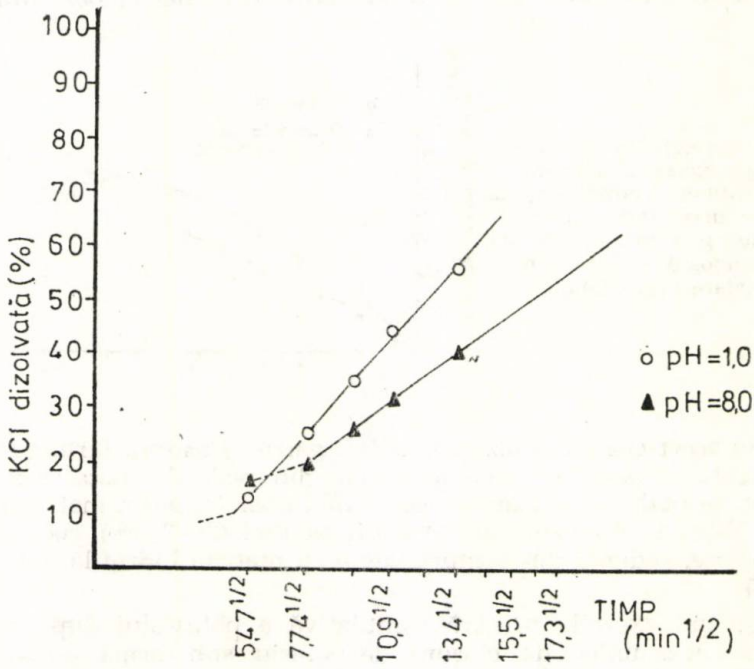


Fig. 5 — Influența pH-ului mediului asupra cedării clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă.

de bază a fiecărui subiect, respectiv valorile medii cumulative ale secreției urinare a potasiului. Se constată că după administrarea peroral a unei doze unice de 48 mEq K^+ sub formă de soluție apoasă de clorură de potasiu, absorbția este rapidă, înregistrîndu-se nivelele maxime la 1 oră după ingestie și valori superioare nivelelor de bază ale subiecților, pînă la 8 ore. Parametrii farmacocinetici ai potasiului calculați conform mo-

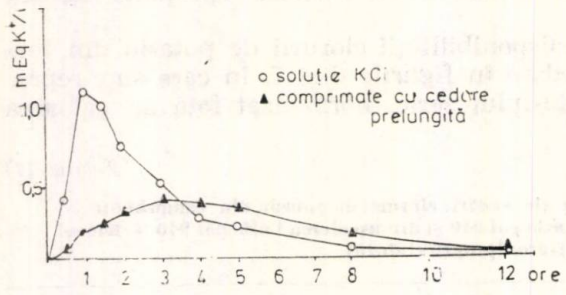
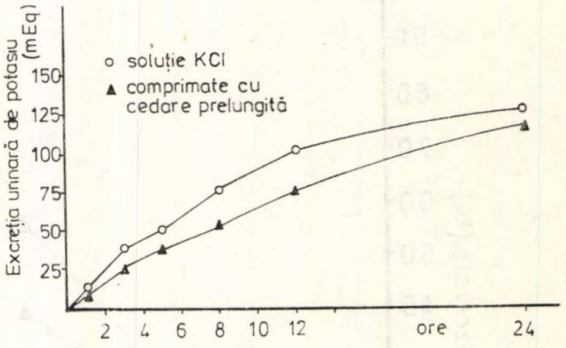


Fig. 6 — Nivelele medii ale potasiului seric obținute după administrarea peroral a unor doze unice de clorură de potasiu sub formă de soluție apoasă și comprimate cu cedare prelungită.

delului farmacocinetic monocompartimentat sînt redați în tabelul IV. După administrarea unei doze echivalente de clorură de potasiu sub formă de comprimate cu cedare prelungită, absorbția este mai lentă, maximul nivelelor medii ale potasiului se realizează doar după 3—4 ore, mărimea valorilor potasemiei fiind mult mai coborîtă decît după administrarea soluției, dar mai prelungită în timp față de valorile de bază ale subiecților. Determinarea parametrilor farmacocinetici ai potasiului nu e

Fig. 7 — Nivelele medii cumulative ale excreției urinare a potasiului după administrarea peroral a unor doze unice de clorură de potasiu sub formă de soluție apoasă și comprimate cu cedare prelungită.



posibilă în acest caz din cauza retardării galenice asupra farmacocineticii ionului. Totuși, dacă se calculează $t_{1/2}$ din valorile potasemiei între 8—12 ore, se obține o valoare de cca 4 ore, doar cu puțin mai mare decît valoarea obținută în cazul administrării soluției (2—3 ore), ceea ce arată că după 8 ore, cedarea din comprimatele cu matriță hidrofilă este practic terminată.

Analizînd excreția urinară cumulativă a potasiului după administrarea unei doze unice de clorură de potasiu sub formă de soluție și comprimate cu matriță hifrofilă (fig. 7) se constată că viteza excreției este mai mare după ingestia soluției, dar cantitatea totală excretată în 24 de ore este practic identică. Aceasta dovedește de asemenea că biodisponibilitatea celor două produse este similară.

Tabelul IV

Constantele farmacocinetice ale potasiului după administrarea unei doze unice de 48 mEq K^+, peroral, la subiecți umani, sub formă de soluție apoasă de clorură de potasiu și comprimate cu acțiune prelungită

Forma galenică	*Constante farmacocinetice*					
	C_0 (*mEq*)	$t_{latență}$ (*ore*)	K_a (h^{-1})	K_{el} (h^{-1})	$t_{1/2}$ (*ore*)	ASC_0^{12} ($mEq.h.h^{-1}$)
Soluție	1,35	0,14	8,42	0,438	1,58	2,57
Comprimate cu acțiune prelungită						2,4
	Biodisponibilitatea = $\frac{\text{ASC compr.}}{\text{ASC soluție}} \times 100 = 93{,}38\ \%$					

CONCLUZII

Studiul influenței factorilor de formulare și a tehnologiei asupra vitezei de eliberare a clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă arată că procentul de substanță, cedat în funcție de rădăcina pătrată a timpului, crește liniar în domeniul de la 20% la 80% clorură de potasiu eliberată cu creșterea cantității de polimer în matriță.

Viteza de cedare scade nesemnificativ cu granulometria principiului activ.

Creșterea forței de comprimare duce la micșorarea timpului de latență, a difuziei și a timpului de dizolvare $t_{50\%}$.

Asocierea de hidroxipropilceluloză la Carbopol 940 realizează o matriță cu cedare mai lentă comparativ cu comprimatele preparate numai cu Carbopol cu excipient hidrofil.

Granularea umedă cu cloroform duce de asemenea la o cedare mai lentă a clorurii de potasiu.

Prin alegerea corespunzătoare a variabilelor tehnologice menționate, poate fi modulară în sensul dorit cedarea clorurii de potasiu din comprimatele cu matriță hidrofilă.

Studiul biodisponibilității arată că absorbția potasiului din comprimatele cu matriță hidrofilă este lentă și prelungită, spre deosebire de soluția de clorură de potasiu, care este rapid absorbită și excretată. Cantitatea de potasiu excretată în urină, în 24 de ore, este însă similară după administrarea soluției și a comprimatelor cu matriță hidrofilă conținînd clorură de potasiu.

Aceste cercetări creează premisa unui studiu clinic asupra eficienței și toleranței unor comprimate cu cedare prelungită de clorură de potasiu.

BIBLIOGRAFIE

1. SCHWARTZ W. B., DE STRIKOU V. Y., KASSIRER J. P. — *New Engl. J. Med.*, 1968, *279*, 630.
2. KASSIRER J. P., BERKMAN P. M., LAWRENZ D. R., SCHWARTZ W. B. — *Am. J. Med.*, 1972, *38*.
3. DOBRESCU D. — Farmacoterapie, Edit. Medicală, București, 1981.

4. * * * — AMA Drug Evaluations, 2-nd ed., AMA Department of Drugs, American Medical Association, Chicago, 1973.
5. BLOCK B. P., THOMAS M. B. — *J. Pharm. Pharmacol., Suppl.*, 1978, 30, 70.
6. JACOBS E., PRINGOT J. — *Am. J. Dig. Dis.*, 1973, *18*, 289.
7. JEFFERSON J. M., AUKLAND P. — *Br. Med. J.*, 1974, *1*, 456.
8. TARPLEY E. L. — *Curr. Ther. Res.*, 1974, *16*, 734.
9. GRAFFNER C., SJÖGREN J. *Acta Pharm. Suec.*, 1971, *8*, 13.
10. SALAMON J. L., DOELKER E. — *Pharm. Acta Helv.*, 1980, *55*, 174.
11. DOELKER E., BURI P. — *Pharm. Acta Helv.*, 1981, *56*, 111.
12. BURI P., DOELKER E. — *Pharm. Acta Helv.*, 1980, *55*, 189.
13. HARRIS M. S. — *J. Pharm. Sci*, 1981, *70*, 391.
14. HUBER H. E., DALE L. B., CHRISTENSEN G. L. — *J. Pharm. Sci.*, 1966, *55*, 974.
15. LAPIDUS H., LORDI N. G. — *J. Pharm. Sci.*, 1966, *55*, 840 ; 1968, *57*, 1 292.
16. HIGUCHI T. — *J. Pharm. Sci.*, 1963, *52*, 1 145.
17. SALOMON J. L., DOELKER E., BURI P., — *Pharm. Acta Helv.*, 1979, *54*, 82.
18. BURI P., DOELKER E. — *Pharm. Acta Helv.*, 1980, *55*, 189.
19. * * * — A 73-a parte a lucrării „Contribuții la cercetarea biofarmaceutică a medicamentelor" (sub red. S. E. Leucuța și colab.).
20. * * * — Farmacopeea română, ediția a IX-a, Edit. Medicală, București, 1976.
21. LEUCUȚA S. E., POP R. D. — Farmacocinetica, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1981.
22. SCHERNZEL M. — *Pharm. Acta Helv.*, **1977**, *39*, **898.**
23. POPOVICI A., TÖKÉS B., PAPP I., SUCIU G. — Reologia formelor farmaceutice, Edit. Medicală, București, 1985.

Articol intrat în redacție la 9. VII. 1986.

Indicele de clasificare : 615.732.21—033.

SUMMARY

C. Polinicencu, S. E. Leucuța, D. Zdrenghea, Agota Kovats, N. Stăncioiu — THE INFLUENCE OF FORMULAE ON THE KINETICS OF LIBERATION, AND ON BIOAVAILABILITY OF POTASSIUM CHLORIDE FROM TABLETS WITH HYDROPHYLLIC MATRIX

The influence was studied, of formulation on in vitro liberation and on bicavailability of potassium chloride from tablets with a hydrophyllic matrix containing Carbopol 940. Determination of potassium chloride concentrations was done by atomic absorption spectroscopy, and from serum and urine it was done with a flame-photometer. It was noted that liberation of potassium chloride from the tablets follows the law of diffusion from thematrix, in proportion with the square root of time, in the range of concentrations varying from 20 to 80%. The liberation velocity decreases in relation to the increased proportion of the polymer in the matrix, with the increased compressing force, when hydroxypropylcellulose is associated, and with the increase in pH. It is only slightly influenced by the granulometry of the medicinal substance. Bioavailability of potassium chloride from an experimental formulation of tablets with a hydrophyllic matrix administered in bolus (48 mEq of potassium) in human subjects is similar to an equivalent dose of potassium chloride administered as a solution, but the absorption velocity is lower and the duration longer.

Caracterul reducător al clonidinei față de oxidanți anorganici

Veronica Nacea, Victoria Aldea

Laboratorul de Chimie Anorganică, Facultatea de Stomatologie și Farmacie, București

REZUMAT

În continuarea cercetărilor privind comportarea redox a unor medicamente, s-au urmărit spectrofotometric sistemele clonidină-clorhidrat/$KMnO_4$ și clonidină — clorhidrat/$K_2Cr_2O_7$.

S-a confirmat atît caracterul reducător al clorhidratului-clonidinei cît și potențarea acestuia în condiții de reacție apropiate de cele corespunzătoare mediului biologic.

Antihipertensive
Reductaze

Clonidina (CATAPRESAN, HAEMITON) este un agent hipotensiv întrebuințat în mod curent în terapeutica românească.

Acțiunea sa globală asupra presiunii arteriale este rezultanta efectelor periferice și centrale. Este indicată în tratamentul hipertensiunii esențiale și renale inclusiv în formele maligne, în tratamentul migrenelor, al glaucomului și ca decongestiv al mucoaselor (1, 2).

Se poate administra sub formă de săruri : clorhidrat, fosfat, tosilat etc.

Din punct de vedere chimic, clonidina este un derivat de imidazolină.

Proprietatea clorhidratului clonidinei de a forma precipitate colorate cu reactivi cu anioni complecși a fost folosită la dozarea acesteia (3).

Ținînd cont de importanța proceselor redox dintre medicamente și diverși oxidanți (4), am urmărit reliefarea cu ajutorul metodei spectrofotometrice a unor posibile echilibre redox între clorhidratul clonidinei și oxidanți tipici ca : $KMnO_4$ și $K_2Cr_2O_7$, în diverse condiții.

Am studiat reacțiile dintre $KMnO_4$ și clorhidratul clonidinei, respectiv $K_2Cr_2O_7$ și clorhidratul clonidinei, în soluții apoase de diverse concentrații, la pH-ul creat de reactanți și comparativ într-un mediu cu pH = 7,3, la 37°C.

Sistemul redox clonidină-clorhidrat/permanganat de potasiu

Soluțiile de concentrație 10^{-3} M au fost preparate prin dizolvarea în apă a cantităților corespunzătoare de clonidină. Amestecul tampon cu pH = 7,3 a fost preparat din soluții 0,2 M de KH_2PO_4 și NaOH. S-au folosit 50 ml soluție de KH_2PO_4 și 39,34 ml soluție 0,2 molar de NaOH obținînd astfel un amestec tampon cu pH = 7,3 (după Klark și Lubs). Înregistrarea rezultatelor s-a făcut la un spectrofotometru Spekord UV-VIS cu întregistrare automată.

1. Soluția de permanganat de potasiu 10^{-3} M datorită prezenței anionului colorat MnO_4^- prezintă în domeniul vizibil o curbă de absorbție cu trei maxime pronunțate între 520—565 nm. În prezența unei soluții echimoleculare de clonidină-clorhidrat, în mediu apos curba de absorbție a permanganatului de potasiu se modifică total apărînd un maxim de absorbție larg situat la 375 nm. Apariția acestei benzi de absorbție cu maxim larg la această lungime de undă a fost un prim indiciu al procesului redox ce are loc între clonidina-clorhidrat și permanganatul de potasiu, în mediu apos.

Amestecul de reacție a avut un pH = 5.

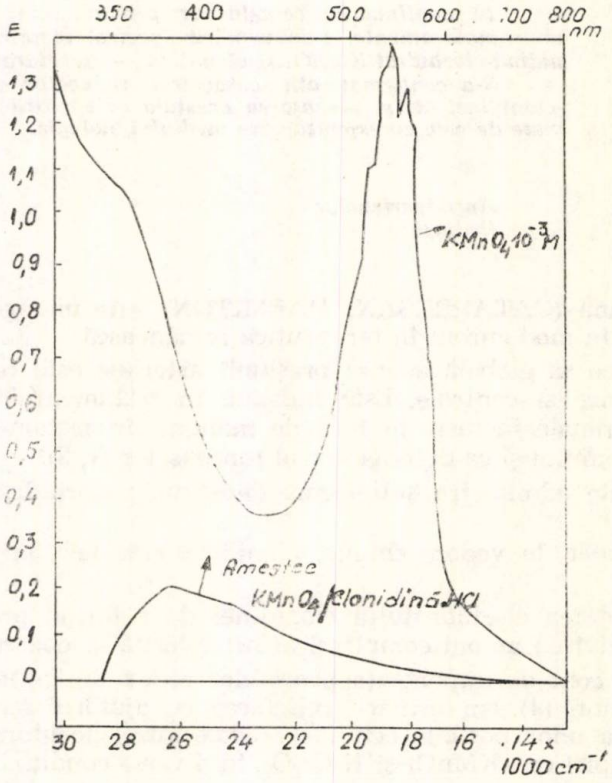


Fig. 1

2. În scopul de a urmări influența fracției molare, am preparat amestecuri izomoleculare corespunzătoare la cinci fracții molare în raport cu clonidina. Reprezentarea grafică a valorilor extincției la 375 nm pen-

tru diferitele amestecuri la pH = 5 (creat de reactanți) și temperatura de 20°C a condus la o curbă ascendentă. Lucrînd cu soluții de aceeași molecularitate la care însă am adăugat cîte 2 ml amestec tampon s-au înregistrat rezultate asemănătoare. Reprezentarea grafică a valorilor extincției în funcție de fracția molară a reducătorului a condus la o curbă corespunzătoare unei reacții de ordinul întîi.

De asemenea din analiza rezultatelor s-a desprins concluzia că fenomenul redox are loc cu o viteză mai mare.

S-a mai observat că începînd cu fracția molară 0,8 în raport cu reducătorul, concentrațiile produsului de reducere (direct proporțională cu ε_{375} nm) sînt apropiate pentru cele două amestecuri de reacție (amestecul de reactanți și amestecul cu soluție tampon).

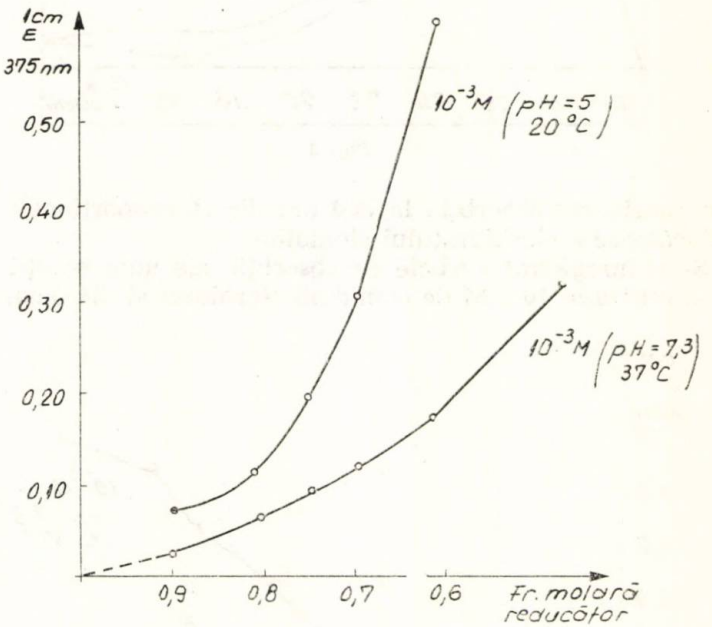


Fig. 2

Sistemul redox clonidină-clorhidrat/dicromat de potasiu

1. S-a înregistrat spectrul de absorbție al unei soluții apoase de dicromat de potasiu 10^{-3} M. Acest compus prezintă în domeniul vizibil o curbă de absorbție cu un maxim situat la 375 nm. În prezența unei soluții corespunzătoare echimoleculare de clonidină clorhidrat în mediu apos, maximul curbei de absorbție a dicromatului de potasiu se deplasează spre lungimi de undă mai mici (360 nm) și în același timp suferă și un efect hipocrom.

Apariția acestei deplasări a constituit indiciul fenomenului redox existent între clonidină și oxidantul anorganic.

În figura 3 se reprezintă curba de absorbție a soluției apoase de dicromat de potasiu 10^{-3} M în comparație cu a amestecului echimolecular clonidină/dicromat de potasiu.

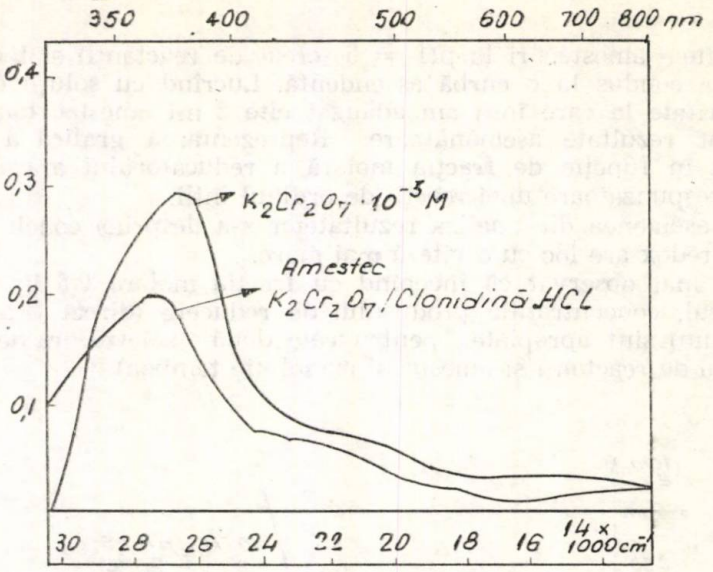


Fig. 3

Am considerat absorbția la 360 nm direct proporțională cu capacitatea reducătoare a clorhidratului clonidinei.

2. S-au înregistrat curbele de absorbție ale unor soluții izomoleculare de concentrație 10^{-3} M de clonidină clorhidrat și dicromat de potasiu

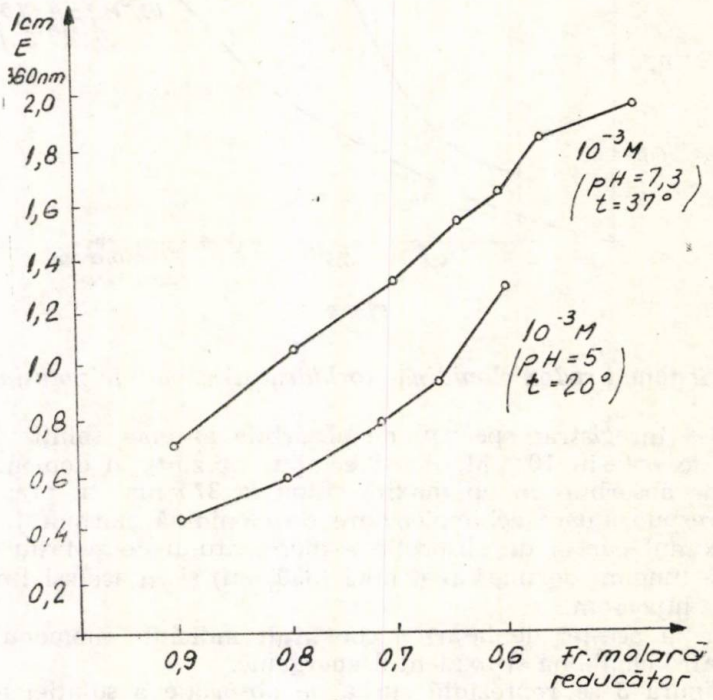


Fig. 4

în cinci amestecuri corespunzătoare la cinci fracții molare în raport cu clonidina.

S-au reprezentat grafic valorile extincțiilor la 360 nm pentru diferitele amestecuri la pH = 5 (creat de reactanți) în funcție de fracția

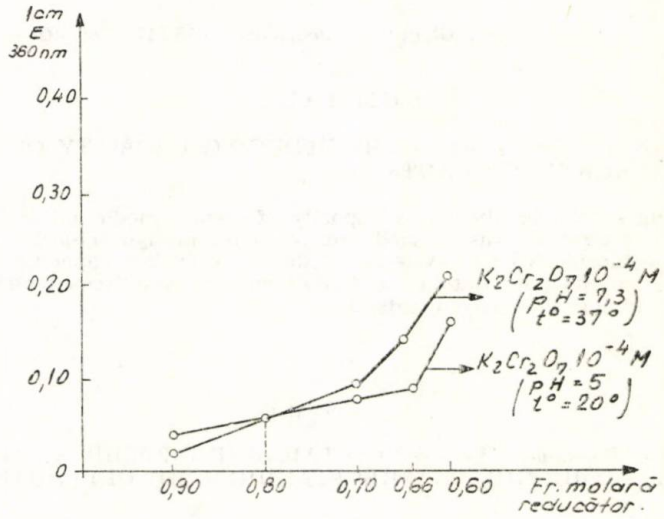


Fig. 5

molară. S-a lucrat cu soluții de aceeași molecularitate la care însă s-au adăugat cîte 2 ml amestec tampon. Din aspectul celor două curbe cît și din valorile extincțiilor s-a putut deduce că fenomenul are loc cu o viteză mai mare la pH = 7,3 și t = 37°C.

Valoarea fracției molare nu a influențat sensibil capacitatea reducătoare a clonidinei.

3. Am urmărit capacitatea soluției apoase a clorhidratului clonidinei de a deplasa absorbția dicromatului și la soluții 10^{-4} M.

S-a remarcat scăderea capacității reducătoare a clonidinei cu creșterea diluției.

De asemenea, curbele obținute au marcat identitatea de comportare la raportul molar 0,8, corespunzător unui proces redox între șase moli de clonidină clorhidrat și un mol de oxidant. Totodată s-a reliefat concentrația mai mare în produși de reducere în cazul cînd amestecul a avut t = 37°C și pH = 7,3.

CONCLUZII

Determinările experimentale efectuate în mediu apos, atît în condițiile create de reactanți cît și în condițiile asemănătoare mediului biologic (t = 37°C, pH = 7,3), au scos în evidență efectul reducător al clorhidratului clonidinei asupra unor soluții de oxidanți anorganici. De asemenea cercetările experimentale au scos în evidență potențarea efectului redox în condițiile asemănătoare mediului biologic în concordanță cu datele din literatură care subliniază acest aspect al reacțiilor chimice ce au loc în mediu biologic.

BIBLIOGRAFIE

1. STAAHLLE H. — Brevet Belg., 623305, 1965.
2. HOEFKE W., KOBINGER W. — Arznrimitte forscheng, 1966, 16, 1 038.
3. GEORGESCU G., NACEA V., ALDEA V. — Practica Farmaceutică, 1980, 11, 155—159.
4. HUGHES M. N. — The Inorganic Chemistry of Biological Processes, London, 1975.

Articol intrat în redacție la 3. XII. 1986.

Indicele de clasificare : 615.717 Clonidin — 06:612.015.11

SUMMARY

Veronica Nacea, Victoria Aldea — THE REDUCING CAPACITY OF CLONIDINE FOR ANORGANIC OXIDANTS

Following studies on the redox capacity of certain medicinal drugs a spectrophotometric investigation was carried out of clonidine-hydrochloride-$KMnO_4$, and clonidine-hydrochloride-$K_2Cr_2O_7$ systems. Both the reducing capacity of clonidine-hydrochloride, and its potentiation were confirmed in conditions which were similar to those in biological environments.

РЕЗЮМЕ

Вероника Начя, Виктория Алдя — ВОССТАНАВЛИВАЮЩИЙ ХАРАКТЕР ДЕЙСТВИЯ ХЛОНИДИНА НА НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ОКИСЛИТЕЛИ

Продолжая свои исследования в связи с редокспотенциалом некоторых лекарственных препаратов, авторы изучили спектрофотометрически системы солянокислого хлонидина /$KMnO_4$ и солянокислого хлонидина/$K_2Cr_2O_7$.

Был доказан как восстанавливающий характер действия солянокислого хлонидина, так и усиление этого действия при условиях реакции, приближающихся к соответствующим условиям биологической среды.

(Continuare din pag. 132)

cianii cu acțiune antidiabetică din *Vaccinium myrtillus*, ca și influența derivaților flavanolignanici asupra sintezei de acizi nucleici și proteine, în ficat, reține de asemenea atenția.

Relațiile dintre structura diferitelor flavonoide naturale și a unora din similarele lor de sinteză, față de acțiunea farmacodinamică și utilizările respective în terapeutică, reprezintă conținutul unui interesant studiu, sub semnătura lui H. Gábor. Menționăm recenta descoperire a hipolaetinei antiulceroase ca și utilizările catehinei și a cianidanolului.

La fel de interesante sînt proprietățile izoflavonelor în tratamentul aterosclerozei. Tot mai multe lucrări apar în legătură cu acțiunea antivirală a flavonelor, fapt ilustrat și în cartea autorilor maghiari.

Aceeași importanță se acordă relațiilor dintre proprietățile biologice ale flavonoidelor în metabolismul prostaglandinelor.

Proprietățle antioxidante ca și contribuția flavonelor la procesele de autooxidare se bucură de tot mai multe utilizări în practică, așa cum reiese dintr-un alt număr de lucrări.

În concluzie, publicînd lucrările simpozionului amintit, cartea are darul de a prezenta, într-o viziune generală, unele din cele mai noi achiziții în domeniul bioflavonoidelor.

Prof. dr. *Em. Grigorescu*

Geluri pe bază de colagen, cu produse din plante, utilizate în tratamentul mastozelor și mastodiniilor

Eliza Gafițanu, Iuliana Popovici, Steriana Braha, V. Dorneanu, Iulia Vasiliu, Iuliana Dimofte, Viorica Trandafir

Facultatea de Stomatologie și Farmacie, Iași,
Institutul de Cercetări Pielărie și Încălțăminte
București

REZUMAT

Cercetările întreprinse au avut ca obiectiv realizarea unor dermopreparate pe bază de progesteronă 1,5% în asociere cu produse din plante — tinctura din Calendula officinalis, *uleiul volatil din* Achilea millefolium *și totalul alcaloidic din* Chelidonium majus.

Din considerente biofarmaceutice, ținînd seama de locul de aplicare, s-a utilizat gelul de colagen nedenaturat S.C.I. 1,7%, tamponat cu carbonat de calciu la pH = 5,5.

S-a stabilit tehnica de preparare a gelurilor și s-au determinat: pH-ul, constantele reologice, s-a cercetat penetrația prin piele și s-a efectuat orientativ experimentarea clinică pe voluntari.

Progesteronum
Plante medicinale
Colagen
Geluri
Mastoză

În scopul diversificării gamei de produse utilizate în tratamentul mastozelor și mastodiniilor s-au cercetat posibilitățile de valorificare a unor produse vegetale. Aceste afecțiuni se manifestă prin fenomene dureroase la nivelul zonei glandelor mamare. Cronologia, strict catamenială sugerează patologia hormonală a acestora. Cel mai frecvent, hiperestrogenia este consecința unei insuficiențe luteale. Tratamentul se efectuează pe cale generală și locală cu preparate pe bază de progesteronă.

Cercetările întreprinse au avut ca obiectiv realizarea unor dermopreparate pe bază de progesteronă, în asociere cu produse din plante — florile de gălbenele *(Calendula officinalis)* sub formă de tinctură, florile de coada șoricelului *(Achilea millefolium)* din care s-a extras uleiul volatil și totalul alcaloidic din rostopască *(Chelidonium majus)*.

Această asociere a avut în vedere conținutul în calendulină, saponozide triterpenice, ulei volatil și carotinoide din florile de gălbenele, care are o acțiune complexă: antiinflamatoare, cicatrizantă, calmantă (1—5), la care se adaugă acțiunea astringentă, antiinflamatoare, calmantă și ușor antiseptică a uleiului volatil din coada șoricelului (3, 5) bogat în

azulene (chamazulenă), proazulene (M_1, M_2 și C, achilină), taninuri, flavonozide, colină. Acțiunea se completează prin proprietățile terapeutice ale totalului alcaloidic din rostopască (sanguinarina, cheleletrina), analgezice, antiinflamatoare și antimicrobiene (1, 2, 6, 7).

Din considerente biofarmaceutice, ținînd seama de locul de aplicare, pentru realizarea dermopreparatelor s-a utilizat gelul de colagen, un nou excipient bioresorbabil, indigen (8, 11). Folosirea topică a colagenului este justificată de structura de triplu helix, asemănătoare țesutului conjunctiv uman, iar conținutul ridicat în aminoacizi (peste 30% glicocol), conferă acestor forme farmaceutice o acțiune protectoare, trofică și curativă.

În cercetarea întreprinsă s-a utilizat sortul de colagen nedenaturat S.C.I., cu greutatea moleculară 400 000, în concentrație de 1,7%. Deoarece solubilizarea colagenului, polimer macromolecular, se realizează cu un randament maxim la pH = 4, rezultă un gel cu pH = 3,36 — 3,37. Pentru a se realiza un pH fiziologic, cît mai apropiat de cel al pielii (5—5,5) a fost necesară tamponarea la pH 5—6 cu carbonat de calciu.

Într-o lucrare anterioară (12) s-au comunicat cercetările privind parametrii caracteristici ai gelului de colagen nedenaturat S.C.I. 1,7%, determinările de reologie și vîscozitate, care încadrează gelul de colagen în categoria corpurilor antitixotrope (reopexe).

Hidrogelurile de colagen realizate cuprind : totalul alcaloidic din rostopască în concentrație 2% (formula 1) ; progesteronă 1,5% dizolvată în alcool benzilic și dispersată în gelul de colagen (formula 2), iar formula 3 asociază progesterona cu tinctura de gălbenele, uleiul volatil din coada șoricelului și totalul alcaloidic din rostopască. Conservantul utilizat în toate preparatele a fost soluția de fenosept 2‰ (tabelul I).

Tabelul I

Formule de geluri pe bază de colagen, cu produse din plante

Ingredientele (g)	Formula		
	1	2	3
Progesteronă	—	1,50	1,50
Total alcaloidic din *Chelidonium majus*	2	—	2
Tinctură din *Calendula officinalis*	—	—	10
Ulei volatil din *Achilea millefolium*	—	—	0,30
Alcool benzilic	—	2	2
Soluție de fenosept 0,2%	1	1	1
Gel de colagen nedenaturat S.C.I. 1,7% tamponat cu carbonat de calciu la pH = 5,5	la.....100.....		

Dermopreparatele sînt geluri transparente (formula 2) sau de culoare brun-închis (formulele 1 și 3), stabile, cu miros caracteristic, în care componentele sînt suspendate sau emulsionate în gelul de colagen.

pH-ul dermopreparatelor variază între limitele 5,40—5,91, valori care se modifică în timpul conservării între limitele 4,90—6,20.

Pentru aprecierea proprietăților hidrogelurilor de colagen, privind capacitatea de întindere, tixotropie și adezivitate s-au efectuat determinări de reologie și vîscozitate, la un reovîscozimetru rotațional RHEOTEST-RV_2 la 25°C ± 1°C. Formula 1 are o comportare pseudoplastică,

reopexă ; la viteze mari de forfecare, în sens crescător se realizează numai o parte din structura corespunzătoare stării de forfecare, ea continuînd și pe curba descrescătoare (valorile se suprapun) (fig. 1). Hidrogelul 1 are un prag de curgere la valori mici ale forței de forfecare și anume la 326 dyn/cm^2, ceea ce permite realizarea unui film continuu la aplicarea pe piele.

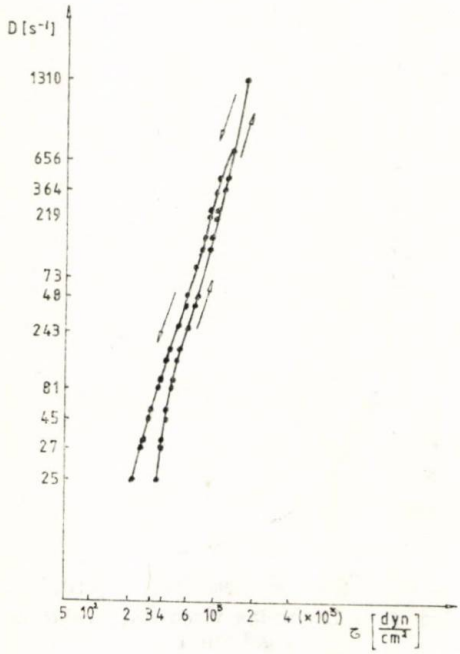


Fig. 1. — Curba de curgere a gelului 1

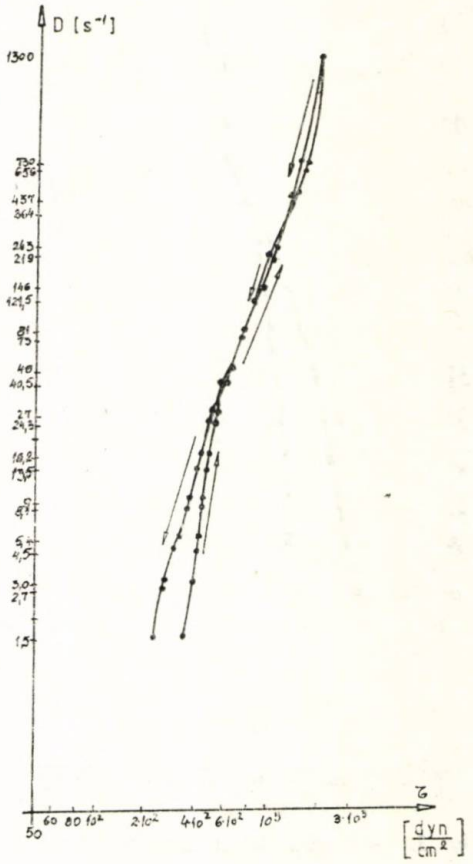


Fig. 2. — Curba de curgere a gelului 2

Unguentul 2, care conține progesteronă, are de asemenea o comportare pseudoplastică, care începe la valori ridicate ale tensiunii de forfecare (fig. 2), corespunzătoare gradienților mici de viteză. La viteze mari de forfecare în sens contrar, valorile aproape se suprapun. Hidrogelul 2 are de asemenea un prag de curgere marcat, cu o valoare de 235 dyn/cm^2.

Adaosul de 10% tinctură de gălbenele conferă hidrogelului 3 caracterul tixotrop și un prag de curgere la o valoare mai mică și anume de 164 dyn/cm^3 (fig. 3). Comparativ cu formulele 1 și 2, acest gel se etalează mai ușor pe piele, avînd și o bună stabilitate.

Dermopreparatele cu excipient pe bază de colagen nedenaturat S.C. I 1,7%, neutralizate cu carbonat de calciu prezintă valori mari ale

vîscozității relative și anume : 21,736 cP (formula 1), 22.660 cP (formula 2) și 27.192 cP (formula 3) ; aceste valori scad în timp sub acțiunea vitezelor mari de forfecare (fig. 4, 5 și 6).

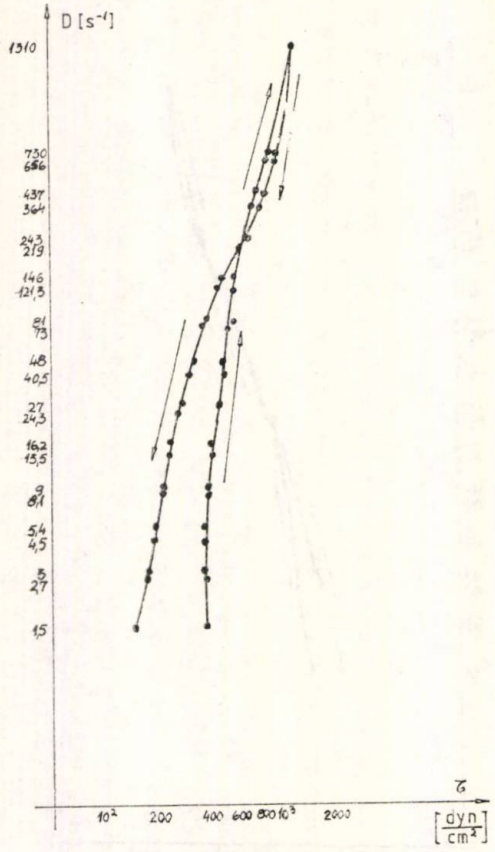


Fig. 3. — Curba de curgere a gelului 3

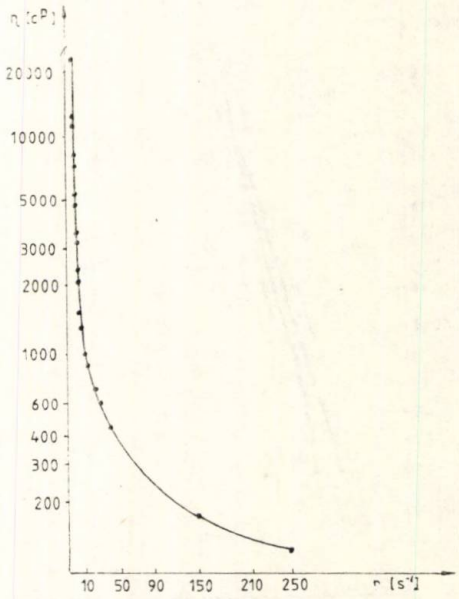


Fig. 4. — Dinamica vîscozității relative a gelului 1

Penetrația percutanată a dermopreparatelor de colagen s-a cercetat prin urmărirea transportului activ transepitelial al ionilor de sodiu, prin tegumentul izolat de broască (13, 14). În toate cazurile se constată că excipientul influențează transportul activ al ionilor de sodiu mai puțin, comparativ cu hidrogelurile 1, 2 și 3 (fig. 7). Se constată că cea mai mare influență asupra transportului transepitelial al ionilor de sodiu, în medie de 16,8 μ Eq/l/oră o prezintă formula 3, iar unguentele 1 și 2 au aceeași valoare medie de 0,9 μ Eq/l/oră.

Resorbția mai crescută a hidrogelului 3 se datorește prezenței saponozidelor triterpenice din tinctura de gălbenele.

Dermopreparatele au fost testate orientativ pe voluntari — un număr de 30 de femei, cu vîrsta între 21—34 ani, diagnosticate prin examen clinic și de laborator, cu mastodinii hiperestrogenice. La toate persoanele s-au exclus afecțiunile ca : nevralgii intercostale secundare, spon-

diloze sau alte afecțiuni vertebrale, pleuropneumopatii sau coronarite. S-au împărțit în următoarele grupe :

— primul lot de femei nu a primit tratament hormonal, ci numai simple comprese pe sîni ;

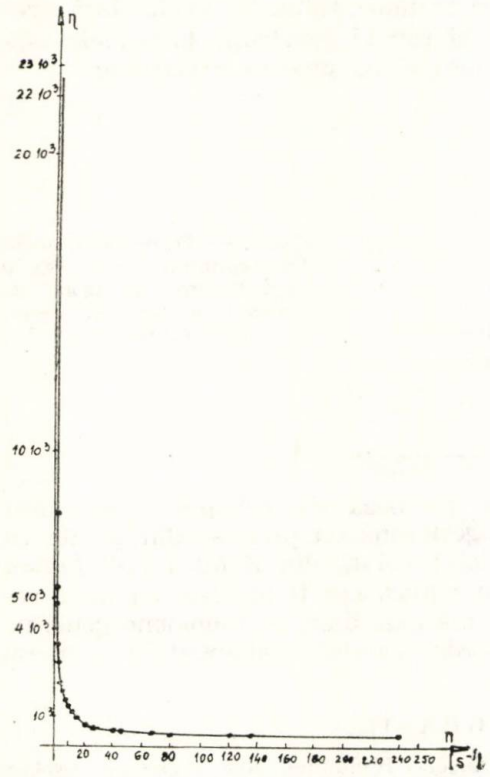


Fig. 5. — Dinamica vîscozității relative a gelului 2

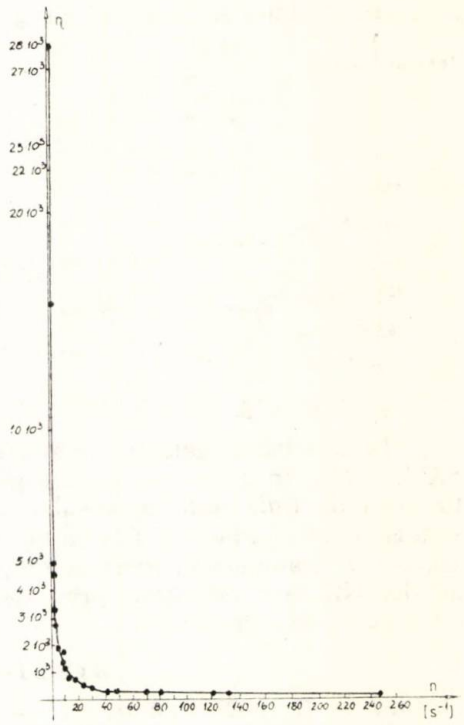


Fig. 6. — Dinamica vîscozității relative a gelului 3

— al doilea lot de femei a primit tratament injectabil cu progesteronă din a 21-a zi a ciclului menstrual ;

— la al treilea lot de femei s-a administrat extern hidrogelul 1 ;

— la al patrulea lot de femei s-a administrat extern hidrogelul 2 ;

— la al cincilea lot de femei s-a administrat extern hidrogelul 3.

În toate cazurile s-au aplicat 5 g gel de 2 ori pe zi, dimineața și seara, timp de 3 luni, prin masare ușoară. Lunar pacientele au fost controlate prin aprecierea semnelor clinice subiective și obiective, în a 25-a zi a ciclului menstrual ; supravegherea s-a făcut timp de 3 luni și apoi din 2 în 2 luni, încă 5 luni.

S-au constatat următoarele :

— la primul lot nici o modificare semnificativă ;

— la lotul tratat cu injecții de progesteronă s-a constatat atenuarea treptată, după 3 luni, a afecțiunii, cu menținerea unei discrete tensiuni premenstruale, după 6 luni de la aplicarea tratamentului ;

— la lotul tratat cu hidrogelul 1, care conține totalul alcaloidic din rostopască s-a observat o ușoară acțiune antiinflamatoare și analgezică, prin atenuarea în timp a fenomenelor dureroase și de tensiune ;

— în cazul loturilor următoare, tratate cu gelurile 2 și 3 care conțin progesteronă și respectiv progesteronă și produse vegetale, semnele clinice au fost atenuate după prima lună de tratament, menținîndu-se astfel și după 6 luni de la începerea tratamentului. Se evidențiază preparatul 3 care prezintă o bună și mai rapidă penetrație prin piele față de gelul 2, datorită asocierii progesteronei cu produsele vegetale.

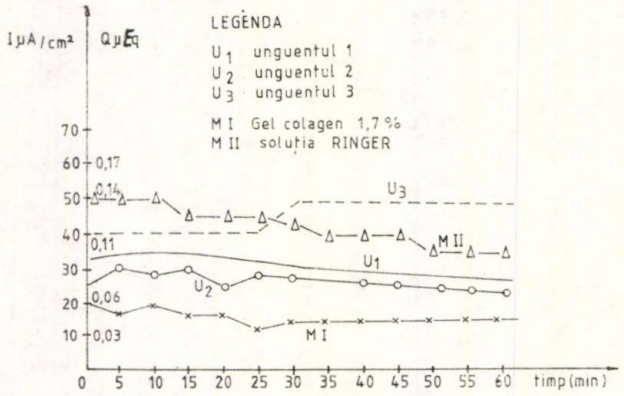


Fig. 7. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența gelurilor de colagen.

În concluzie, gelurile realizate pe bază de colagen nedenaturat S.C.I. 1,7%, în care s-a asociat progesterona cu produse din plante ca tinctura de *Calendula officinalis,* uleiul volatil din *Achilea millefolium* și totalul alcaloidic din *Chelidonium majus,* pot fi indicate cu bune rezultate în tratamentul mastozelor și mastodiniilor, cu fenomene generale de dezechilibru estrogeno-progesteronic, asociat tratamentului general cu progestative de sinteză.

BIBLIOGRAFIE

1. LIST P. H., HÖRHAMMER L. — Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, vol. IV, Ed. Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1976.
2. CHARTONET J. — Les plantes médicinales, à reconnaitre, a préparer, a consommer, Ed. Berger-Levrault, Paris, 1979.
3. CONSTANTINESCU GR., HAȚIEGANU ELENA — Plante medicinale, Edit. Medicală, București, 1979.
4. * * * — Rote Liste, Ed. Cantor, Aulendorf (Würt), 1981.
5. GRIGORESCU EM., STĂNESCU URSULA — Farmacognozie, vol. III, litografia I.M.F., Iași, 1974.
6. IONESCU-STOIAN P., SAVOPOL EM. — Extracte farmacetuice vegetale, Edit. Medicală, București, 1977.
7. GHEORGHIU A. — Contribuții la studiul speciei *Chelidonium majus L.* din România, Teză de doctorat, I.M.F., București, 1971.
8. NEGOIȚĂ STELA și colab. — Practica farmaceutică, 1983, p. 931—932.
9. SIMIONESCU CR., GORDUZA VALERIA — Polimeri biocompatibili și biologic activi, Ed. Academiei R.S.R., București, 1980.
10. TRANDAFIR VIORICA, BALICA STELUȚA, CONSTANTINESCU MARIA — Industria ușoară, 1980, 27, 9, 386—388.
11. TRANDAFIR VIORICA, CONSTANTINESCU MARIA — Brevet Rom. 70.148, 15 iulie 1980.
12. POPOVICI IULIANA, BRAHA STERIANA, GAFIȚANU ELIZA, DORNEANU V., GRIGORESCU EM., IONESCU A., GHERASIM P., MERK IOLANDA — *Farmacia (Buc.),* 1986,, 34, 3, 141—147.
13. CREȚEANU GH., HĂULICĂ I., TOPOLICEANU FL., RIEGLER B., PETRESCU C. — *Rev. Med. Chir.,* Iași, 1968, LXXII, 1, 91—96.
14. POPOVICI IULIANA, GAFIȚANU ELIZA, BRAHA STERIANA, DORNEANU V., VASILIU IULIA — *Farmacia (Buc.),* 1984, 1, 13—20.

Araticol intrat în redacție la 1. XI. 1986.

Indicele de clasificare : 615.361.652—015.2:613.2:618.19—009.7.

Cinetica cedării in vitro şi biodisponibilitatea nitroglicerinei dintr-un unguent lipofil, un film polimeric hidrosolubil şi un sistem terapeutic transcutat

Viorica Filipaş *, S. E. Leucuţa *, Maria Aldea *, Luminiţa Vida Simiti **

Facultatea de Farmacie *, Clinica Medicală I **, Cluj-Napoca

REZUMAT

S-a cercetat cinetica cedării in vitro şi a absorbţiei in vivo a nitroglicerinei din preparate farmaceutice cu aplicare cutanată: unguent lipofil, hidrogel, film polimeric de metilceluloză şi un sistem terapeutic transdermic comercial Nitroderm TTS (Ciba-Geigy).

S-a evaluat cinetica eliberării nitroglicerinei din unguent şi gel ca fiind conformă cu difuzia din matriţă, avînd valori mai mari în cazul hidrogelului. Cedarea din sistemul terapeutic şi film este mai apropiată celei de ordinul zero, avînd valori superioare în cazul sistemului terapeutic faţă de film.

Absorbţia transcutanată a nitroglicerinei din sistemul terapeutic este de 4,18 mg/24 ore iar din filmul de polimer hidrosolubil cercetat de 3,77 mg/24 ore.

Viteza de absorbţie din unguent este mai mică $t\frac{1}{2}$ *abs= 43 min, iar din hidrogel este mai rapidă!* $\frac{1}{2}$ *abs = 30 min.*

În scopul unei terapii de prevenire a anginei pectorale, unguentul pare corespunzător prin aplicări repetate la intervale de 4—6 ore, iar filmul polimeric, la o aplicare unică pe 12 ore.

Nitroglicerinum
Unguente
Farmacocinetică

Aplicarea nitroglicerinei pe piele în diverse sisteme de cedare, urmăreşte un tratament profilactic al anginei pectorale (1, 2). Pe această cale de administrare substanţa medicamentoasă evită circulaţia portală şi metabolizarea însemnată prin efectul primului pasaj hepatic, permiţînd astfel realizarea unor concentraţii sistemice corespunzătoare pentru o acţiune de lungă durată, care nu se pot obţine pe cale orală sau sublinguală (3).

O cantitate de 25 mg nitroglicerină aplicată pe piele sub formă de unguent pe o suprafaţă de aproximativ 50 cm^2 produce efecte hemodinamice care sînt maxime între 60—90 minute după aplicare şi persistă 4—6 ore (4—7). S-a constatat totuşi o mare variaţie în diferite studii, în ceea ce priveşte cantitatea administrată şi suprafaţa cutanată tratată, ceea ce a dus la variaţii mari în activitatea antianginală constatată.

Recent s-au realizat sisteme de cedare transdermică a nitroglicerinei cu viteză controlată, cu eliberare prelungită, independent de fluctuațiile inter- și intraindividuale ale permeabilității cutanate, realizînd nivele medicamentoase eficiente pe o durată de 24 ore sau mai mult (3, 8—11).

Se cunoaște de asemenea faptul că încorporarea unor substanțe medicamentoase în filme preparate din polimeri, asigură o cedare prelungită, constanta de difuzie putînd fi influențată prin particularitatea preparării filmelor (12—15).

În această lucrare s-a cercetat cinetica cedării *in vitro* a nitroglicerinei dintr-un unguent lipofil anhidru și dintr-un hidrogel de metilceluloză, precum și dintr-un film de metilceluloză realizat din hidrogelul acestui polimer, în comparație cu un sistem terapeutic transdermic, Nidroderm-TTS 10 (Ciba-Geigy); s-a cercetat de asemenea și absorbția transcutanată a nitroglicerinei din aceste preparate, după aplicarea unor doze unice pe stratul cutanat al părții interne a antebrațelor unor subiecți voluntari (16). Scopul acestor cercetări a fost de a evalua influența formei farmaceutice și a unor factori fizico-chimici asupra intensității și duratei efectului, precum și evaluarea preparatelor experimentale, sub aspectul unui eventual efect antianginos prelungit.

MATERIAL ȘI METODE

Preparatele farmaceutice. Unguentul cu nitroglicerină 2% s-a preparat prin încorporarea unei soluții alcoolice de nitroglicerină 5% într-un excipient lipofil anhidru constituit din vaselină și lanolină. Hidrogelul de nitroglicerină 1,25% s-a preparat prin încorporarea soluției alcoolice de nitroglicerină 5% într-un vehicul peliculogen constituit din metilceluloză, polietilenglicol, alcool etilic și apă. Filmul solid de metilceluloză s-a obținut prin evaporarea solventului hidrogelului preparat anterior, fie de pe suprafața unei plăci de sticlă, fie de pe pielea subiecților care au participat la studiu. În aceste cazuri, se poate obține aceeași cantitate de 25 mg nitroglicerină pe doza utilizată, cu 1,25 g unguent, 2 g hidrogel, sau filmul realizat din 2 g hidrogel. Pentru comparație s-a folosit sistemul terapeutic transdermic, Nitroderm-TTS 10 (Ciba-Geigy), care este alcătuit ca un plasture, destinat aplicării pe torace prin intermediul unui polimer adeziv. Nitroglicerina este încorporată într-un rezervor din ulei de siliconă și lactoză, închis de o membrană microporoasă de copolimer de acetat de vinil și etilenă. Sistemul are o suprafață constantă de cedare de 10 cm^2, un conținut de 25 mg nitroglicerină, și cedează 5 mg nitroglicerină în 24 de ore (3, 8—11).

Determinarea cedării in vitro a nitroglicerinei

S-a folosit un vas de sticlă de 400 ml în care s-a introdus solventul, 50 ml alcool etilic concentrat și proba de analizat. Proba a fost introdusă într-un vas de sticlă cilindric, cu suprafața de 10 cm^2 și înălțimea de 3 mm, în care s-a introdus proba, și care s-a acoperit cu o hîrtie Whatman 5 legată cu ață chirurgicală de partea exterioară a vasului de sticlă.

Pentru studiul cedării din film, pelicula polimerului s-a realizat chiar pe vasul de sticlă folosit ca purtător al probelor, prin depunerea hidrogelului și evaporarea solventului.

Plasturele de Nitroderm s-a fixat pe o sită metalică de oțel și s-a depus în vasul de determinare, cu polimerul microporos spre mediul de

dizolvare. Sistemul a fost încălzit la 37°C ± 1°C și s-a agitat cu un agitator cu palete din sticlă cu lungimea de 3,5 cm și lățimea de 1 cm, situat la 5 mm sub nivelul superior al solventului, cu o viteză de 40 rpm. Pentru a preveni evaporarea, partea superioară a vasului de lucru s-a acoperit cu o foaie de staniol. Din mediul de dizolvare s-au prelevat periodic probe, la 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ; 12 și 24 de ore, înlocuind soluția prelevată cu solvent preîncălzit la 32°C.

Determinarea cantitativă a nitroglicerinei în probe

S-a adoptat o metodă descrisă în literatură (17—19) care constă în determinarea colorimetrică a nitritului eliberat prin hidroliza alcalină a nitroglicerinei, la 420 nm.

Determinarea cedării in vivo a nitroglicerinei

Evaluarea absorbției nitroglicerinei din preparat s-a bazat pe metoda diferenței (20) între conținutul total al nitroglicerinei înainte și după aplicarea probei pe pielea voluntarilor. S-a folosit un lot de cinci voluntari pentru studiul absorbției comparative a produselor testate pe o perioadă de 3 ore și 10 pacienți pentru studiul absorbției pe 24 de ore. Preparatele s-au aplicat pe o suprafață de 10 cm^2 (3,3 × 3,3) și s-au acoperit cu o folie de aluminiu fixată cu o bandă adezivă. La diferite perioadă de 3 ore, și 10 pacienți pentru studiul obsorbției pe 24 de ore sau la 24 de ore după aplicare, bandajul s-a îndepărtat și toată cantitatea de preparat de pe piele și de pe bandaj s-a recoltat cu atenție, cu tamponare de vată umectate cu cloroform, care s-au reunit și plasat într-un balon cotat unde s-au extras. O probă din soluție s-a transferat apoi în scopul determinării cantitative în modul descris anterior. Conținutul în probe s-a calculat față de cantitatea probei zero care s-a determinat imediat după aplicare.

Cinetica cedării din unguente și film s-a cercetat conform ecuațiilor de ordinul întîi și a difuziei din matrițe polimerice (12, 21—23). În cazul cineticii de ordinul întîi, viteza de cedare $dQ/dt = Q_0 \cdot e_{kt}$ unde Q este cantitatea de substanță medicamentoasă, iar k = constanta de viteză. Reprezentînd grafic logaritmul cantității cedate în funcție de timp, sau dQ/dt în funcție de Q se va obține o dreaptă.

În cinetica difuziei din unguente, cantitatea cedată este : $Q = k\sqrt{t}$, deci reprezentarea cantității cedate în funcție de timp $^1/_2$, sau dQ/dt în funcție de 1/Q, va da o linie dreaptă.

Calculul constantei de viteză a absorbției s-a făcut prin analiza de regresie a valorilor medii ale cantităților absorbite între timpul t = 0 și t = 3 ore.

Calculul statistic. Calculul intervalului de încredere și al semnificației statistice a diferențelor s-a făcut prin testul t Student pentru un prag de probabilitate de 95%.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În figura 1 sînt redate curbele cumulative ale cantității de nitroglicerină cedată în 24 de ore din preparatele cercetate : unguent, gel, peliculă și sistem terapeutic. Se constată o cedare cu viteză aproape constantă în cazul sistemului terapeutic și al filmului polimeric, valori mai mari fiind înregistrate în cazul sistemului terapeutic transdermic. Ceda-

rea din unguent și din gel are loc cu viteză mai mare la început, în primele ore, după care aceasta scade. Cedarea e mai rapidă, din hidrogel în comparație cu unguentul.

În figura 2 și 3 este reprezentată cedarea nitroglicerinei din preparatele cercetate, în grafice diferențiale. Se constată că în timp ce sistemul terapeutic și filmul asigură nivele destul de constante pe 24 de ore, unguentul și gelul cedează cantități semnificative doar în primele 6—8 ore.

Cinetica cedării din sistemul terapeutic și film este ilustrată în figura 4 și 5. Aparent, aceasta e conformă atît cu cinetica de ordinul întîi, cît și cu teoria difuziei din matriță. Reprezentarea vitezei de difuzie în funcție de Q și 1/Q arată doar în cazul filmului posibilitatea difuziei dintr-o matriță (fig. 6).

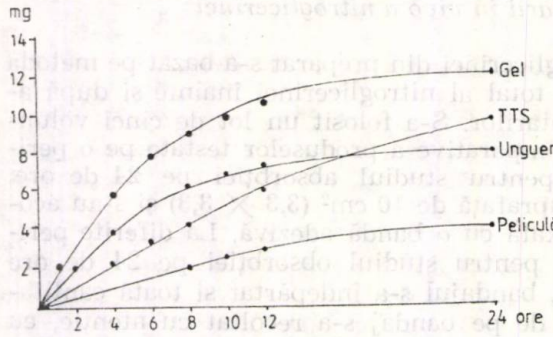


Fig. 1. — Curbele cumulative ale cantității de nitroglicerină cedată în 24 de ore din preparatele cercetate : unguent, gel, peliculă și sistem terapeutic transcutanat.

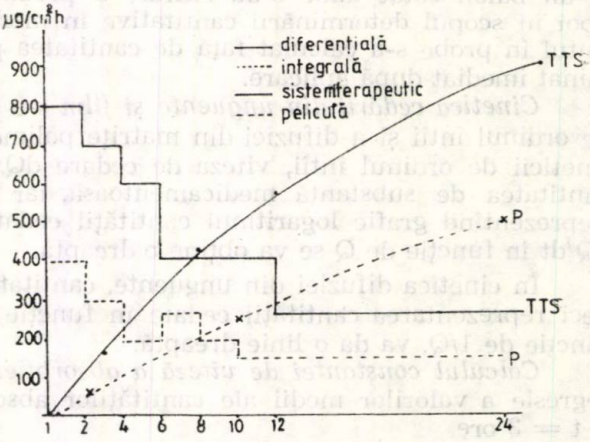
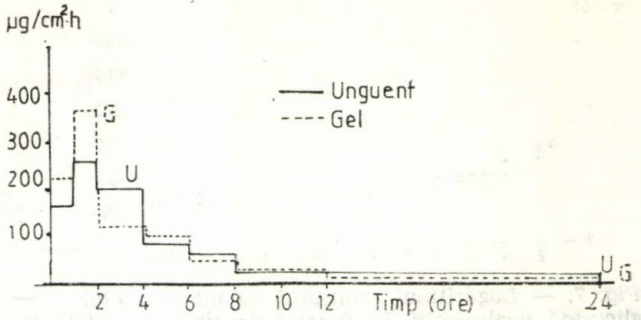


Fig. 2. — Grafic diferențial și cumulativ al cantității de nitroglicerină cedată din sistemul terapeutic transepidermic și din pelicula polimerului hidrofil.

În ceea ce privește cinetica cedării din unguent și gel, s-a infirmat existența unei cinetici de ordinul întîi (fig. 7). Teoria difuziei este valabilă în reprezentarea cantității cedate în funcție de rădăcina pătrată a timpului, doar pentru aproximativ 70% din substanța cedată (fig. 8). Reprezentarea vitezei de cedare dQ/dt în funcție de Q respectiv 1/Q (fig. 9, 10) arată că fenomenul este conform cu difuzia (fig. 10).

Studiul cedării *in vitro* a mai arătat că procesul difuziei, în cazul unguentul și gelul, crește cu creșterea temperaturii (fig. 11, 12) precum și cu creșterea suprafeței pe care se aplică (fig. 13).

Fig. 3. — Grafic diferențial al cedării nitroglicerinei din unguentul lipofil și gelul de metilceluloză.



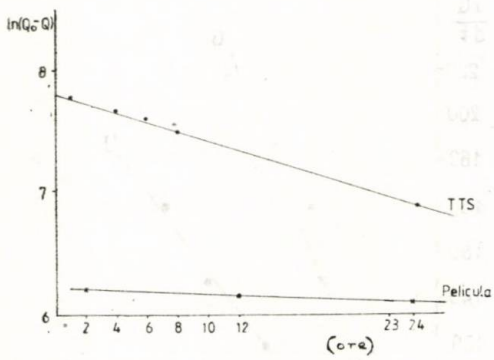


Fig. 4. — Logaritmul cantității de nitroglicerină neabsorbită în funcție de timp, din sistemul terapeutic transepidermic și din pelicula polimerului hidrofil.

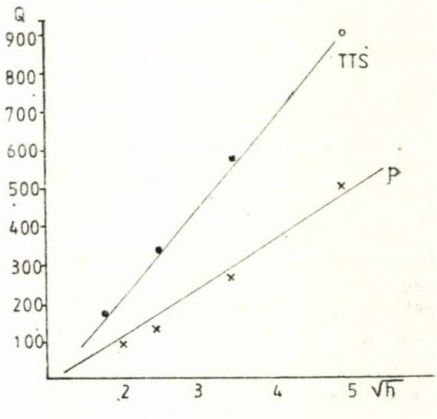


Fig. 5. — Cantitatea de nitroglicerină cedată în funcție de rădăcina pătrată a timpului, din sistemul terapeutic transcutanat și din pelicula polimerului hirofil.

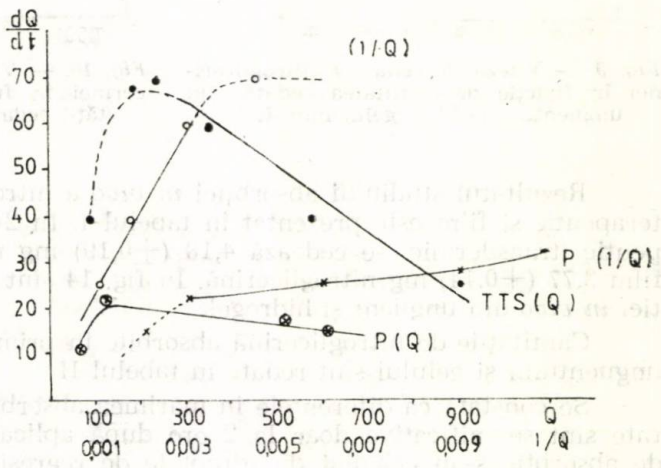


Fig. 6. — Viteza de cedare a nitroglicerinei în funcție de cantitatea cedată și inversul cantității cedate, din sistemul terapeutic transcutanat și pelicula polimerului hidrofil.

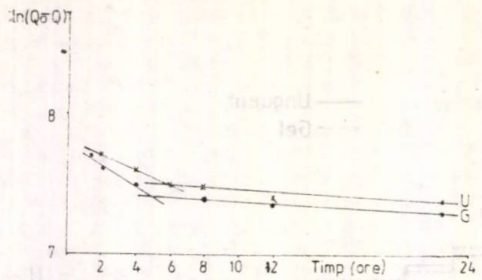


Fig. 7. — Logaritmul cantității de nitroglicerină neabsorbită în funcție de timp, din unguentul lipofil și gelul hidrofil.

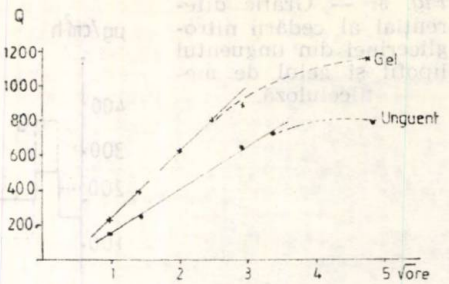


Fig. 8. — Cantitatea de nitroglicerină cedată în funcție de rădăcina pătrată a timpului, din unguentul lipofil și gelul hidrofil.

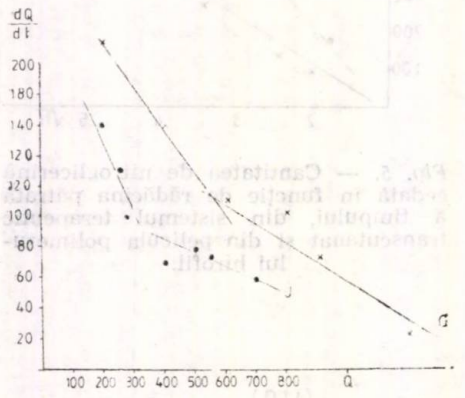


Fig. 9. — Viteza de cedare a nitroglicerinei în funcție de cantitatea cedată, din unguentul lipofil și gelul hidrofil.

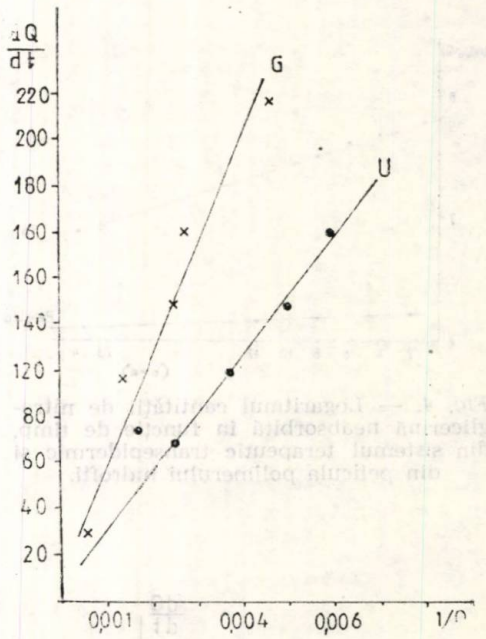


Fig. 10. — Viteza de cedare a nitroglicerinei în funcție de inversul cantității cedate, din unguent și gel.

Rezultatul studiului absorbției *in vivo* a nitroglicerinei din sistemul terapeutic și film este prezentat în tabelul I. În 24 de ore sistemul terapeutic transdermic se cedează 4,18 (±0,19) mg nitroglicerină, iar din film 3,77 (±0,14) mg nitroglicerină. În fig. 14 sînt redate curbele absorbției *in vivo* din unguent și hidrogel.

Cantitățile de nitroglicerină absorbite în primele ore după aplicarea unguentului și gelului sînt redate în tabelul II.

Se constată că diferențele în mărimea absorbției între cele 2 preparate sînt semnificative doar la 2 ore după aplicare. Constantele vitezei de absorbție s-au calculat din dreptele de regresie ale curbelor semilo-

garitmice a cantității de nitroglicerină neabsorbită în funcție de timp (fig. 15). Valorile unei absorbții mai mari s-au constatat în cazul hidrogelului (tabelul III). Timpul de înjumătățire al absorbției este în cazul unguentului de 0,716 h^{-1} ($\simeq$ 43 min), iar în cazul hidrogelului de 0,494 h^{-1} ($\simeq$ 0 min).

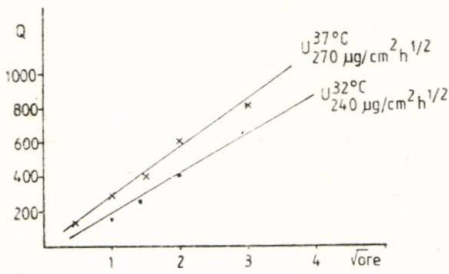


Fig. 11. — Influența creșterii temperaturii asupra cantității de nitroglicerină cedată din unguent.

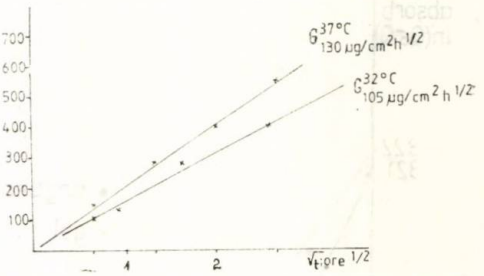


Fig. 12. — Influența creșterii temperaturii asupra cantității de nitroglicerină cedată din gel.

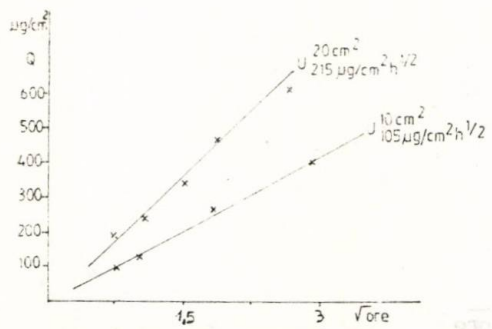


Fig. 13. — Influența suprafeței de aplicare a unguentului asupra cantității de nitroglicerină cedată în timp.

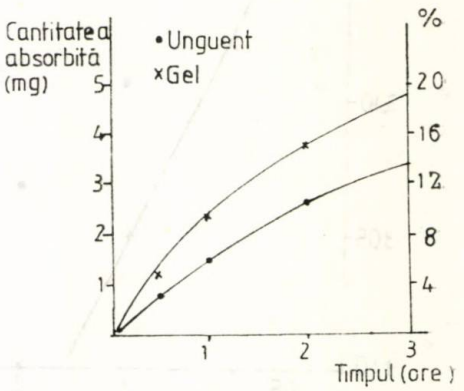


Fig. 14. — Curbele cantităților medii de nitroglicerină absorbite în timp după aplicarea cutanată a unguentului și a gelului la voluntari.

Întrucît fenomenul poate fi considerat complet după 6 $t^1/_2$, absorbția încetează în cazul unguentului după 4 ore, iar în cazul hidrogelului după 3 ore.

În concluzie, cedarea *in vitro* a nitroglicerinei din hidrogel și unguent este rapidă, valorile mai mici în cazul unguentului fiind explicabile prin afinitatea nitroglicerinei pentru excipient. Cedarea nu este totală, datorită repartiției substanței medicamentoase între excipient și mediul de cedare. *In vivo* este de așteptat ca durata efectului acestor două preparate să nu fie mai mare de 4—6 ore. O cedare prea rapidă (cazul hidrogelului) nu ar fi de dorit spre a evita durerea de cap ce se instalează la pacienți la începutul tratamentului cu doze mari, cît și din cauza unei posibile inducții enzimatice dependente de doza mai mare (17). În cazul filmului de metilceluloză, cedarea este de lungă durată, dar are valori mai mici decît în cazul sistemului terapeutic. O deficiență a metodei de realizare a filmului constă în pierderea de substanță medicamen-

toasă care poate ajunge pînă la 40% din cantitatea inițială, pînă în momentul aplicării pansamentului oclusiv. Totuși, cantitatea ce difuzează poate asigura concentrații utile terapiei prelungite cu doză unică, per-

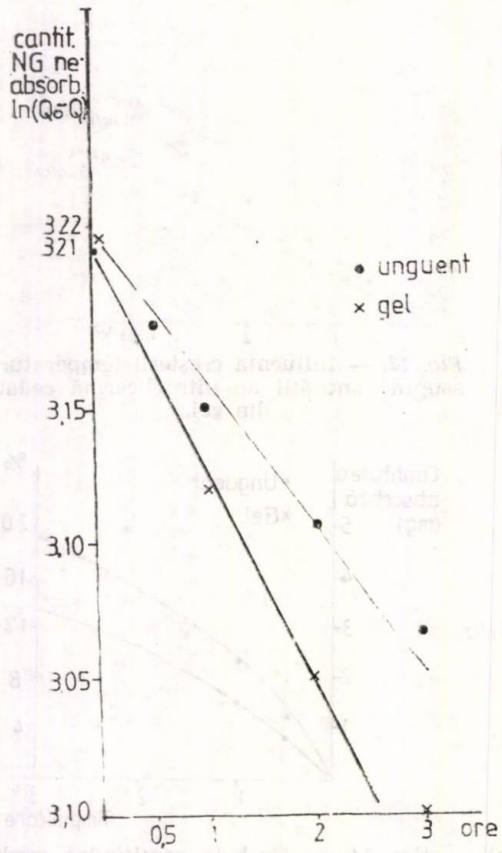


Fig. 15. — Logaritmul cantității de nitroglicerină neabsorbite în timp, după aplicarea cutanată a unguentului și gelului la voluntari.

Tabelul I

Absorbția percutanată a nitroglicerinei după 24 de ore de la aplicarea sistemului terapeutic Nitroderm și a peliculei hidrosolubile pe partea internă a antebrațului voluntarilor

Voluntar nr.	*Nitroglicerina cedată (mg/24 ore)*	
	Nitroderm	*Peliculă*
1	4,72	3,95
2	4,02	4,10
3	3,74	3,25
4	5,07	4,25
5	3,81	3,27
6	4,25	3,86
7	3,78	3,92
8	4,45	3,60
9	3,92	3,75
10	4,05	3,80
$\bar{X}$ (± D. S.)	4,181 (0,19)	3,775 (0,14)

cutanat. Măsurătoarele de absorbție la voluntari au demonstrat o absorbție cu viteză mai mică a nitroglicerinei din unguent în comparație cu gelul, confirmînd prevederile cineticii de difuzie *in vitro*.

Tabelul II

Absorbția transcutanată a nitroglicerinei după aplicarea unguentului și hidrogelului la voluntari

Timp (ore)	*Unguentul* — *Subiectul*					$\bar{X}(\pm D.\ S.)$
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	
0,5	0,5	0,9	0,7	1,1	1,0	0,84 (0,16)
1	1,4	1,2	1,8	2,1	0,9	1,48 (0,32)
2	2,5	3,4	2,9	1,8	2	2,52*(0,44)
3	3,0	3,5	2,8	4	3	3,26 (0,33)
	Hidrogelul					
0,5	0,8	1,0	2	0,7	1	1,1 (0,35)
1	2	1,8	2,7	3	2	2,3 (0,35)
2	4,2	3,5	4,6	3,1	3,5	3,78*(0,41)
3	4,5	5,6	4,1	5,5	4	4,74 (0,52)

* diferență semnificativ statistic

Tabelul III

Ecuația dreptelor de regresie pentru absorbția nitroglicerinei din unguent și hidrogel (Indicii statistici : r = coeficient de corelare liniară; F = testul Fischer; EV = varianța explicată)

Preparatul	*Ecuația dreptei*	*Indici statistici*		
		r	*F*	*EV*
Unguent	Q = 0,967 (± 0,114) t + 0,439 (± 0,215)	0,9931	0,0	95,8
Hidrogel	Q = 1,401 (± 0,225) t + 0,734 (± 0,425)	0,9874	0,0	92,4

Absorbția nitroglicerinei din film este de 3,77 mg în comparație cu 4,18 mg cît s-a constatat după aplicarea sistemului terapeutic.

În lipsa datelor de nivele medicamentoase în ser, comparăm rezultatele obținute cu cele semnalate în literatură. Se consideră că viteza de transfer prin piele *in vitro* este de 20 μ g/cm^2/oră (24).

Sistemul terapeutic Nitroderm, utilizat și de noi asigură nivele superioare, în schimb un alt sistem terapeutic, Deponit (25) deși a manifestat o cedare mai mică, viteza de absorbție fiind deci controlată de sistem, a asigurat totuși nivele sanguine satisfăcătoare.

Prin analogie, s-ar putea aprecia că și filmul polimeric hidrosolubil cercetat ar putea realiza concentrații terapeutice pe o durată mai mare de 12 ore în scopul prevenirii crizelor de angină pectorală.

Performanțe superioare, ca durată și intensitate, s-ar putea obține cu un film la a cărui preparare s-ar elimina dezavantajul pierderii prea mari de substanță medicamentoasă constatată în experimentul de față la evaporarea solventului din hidrogel în scopul realizării filmului. În

schimb, unguentul și hidrogelul ar asigura obiectivul unei durate mari de acțiune doar prin reînoirea aplicării la perioade de aproximativ 4—6 ore. Diferența între aceste preparate o constituie viteza de absorbție mai mare dar cu durata mai mică de acțiune în cazul hirogelului, în timp ce eliberarea nitroglicerinei din unguent se realizează cu o viteză mai mică dar pe o perioadă mai mare de timp.

BIBLIOGRAFIE

1. LUND F. — *Acta Med. Scand.*, 1948, *206*, 196.
2. DAVIS J. A., WIESEL B. H., EPSTEIN S. E. — *Am. J. Med. Sci.*, 1955, *230*, 259.
3. CHIEN Y. W. — *Am. Heart J.*, 1984, *108*, 207.
4. CONTI C. R. — *J. Am. med. Ass.*, 1978, *239*, 2 166.
5. GOLDSTEIN R. E., EPSTEIN S. E. — *Circulation*, 1973, *48*, 917.
6. RITSCHEL W. A. — *J. Pharm. Sci.*, 1971, *60*, 1 683.
7. FICA V., OLTEANU D., GRECEANU I., OPRESCU S. — Produse farmaceutice, C-da 8 531, 1984, p. 41.
8. SHAW J. E. — *Am. Heart. J.*, 1984, *108*, 217.
9. CHIEN Y. W., ROZEK L. F., LAMBERT H. J. — *J. Pharm. Sci.*, 1978, *67*, 214.
10. KEITH A., SNIPES W. — *Eur. Pat.*, 1980, 0,013, 606.
11. SHAW J., BENSON H. — *Am. Pharm.*, 1982, *22*, 226.
12. HIGUCHI T. — *J. Pharm. Sci.*, 1963, *52*, 1 145.
13. FESSI H., MARTY J. P., PUISIEUX F., CARSTENSEN J. T. — *Int. J. Pharm. Sci.*, 1978, *1*, 265.
14. DESAI S. J., SIMONELLI A. P., HIGUCHI W. I. — *J. Pharm. Sci.*, 1965, 54, 1 459.
15. DITTGEN M., STAHLKOPF W. — *Pharmazie*, 1984, *39*, 625.
16. * * * — A 71-a parte a lucrării „Contribuții la cercetarea biofarmaceutică a medicamentelor" (sub red. S. E. Leucuța și colab.).
17. RITSCHEL W. A., RITSCHEL-BEURLIN G., GRUMMICH K. — Arzneimittel forschung, 1980, *30*, 432.
18. * * * — Farmacopeea Română, ed. a IX-a, Edit. Medicală, București, 1976.
19. * * * — USP XX, 1980, p. 552.
20. STRICKER H., LEBER A. — *Acta Pharmacol. Technol.*, 1983, *29*, 265.
21. HIGUCHI T. — *J. Pharm.. Sci.*, 1961, *50*, 874.
22. HIGUCHI W. I. — *J. Pharm. Sci.*, 1962, *51*, 802.
23. SCIARRA J. J., GIDWANI R. — *J. Pharm. Sci.*, 1972, *61*, 754.
24. CHIEN Y. W., KESHARY P. P., HUANG V. C., SARPOTDAR P. P. — *J. Pharm. Sci.*, 1983, *72*, 968.
25. WOLFF M., CORDES G., LUCKOW V. — *Pharm. Res.*, 1985, 1, 23.

Articol intrat în redacție la 9. VII. 1986.

Indicele de clasificare : 615.717.4—032:611.77:616—031/—033

SUMMARY

Viorica Filipaș, S. E. Leucuța, Maria Aldea, Luminița Vida Simiti — KINETICS OF IN VITRO LIBERATION AND BIOAVAILABILITY OF NITROGLYCERIN FROM LIPOPHILLIC ONGUENTS, FROM A HYDROSOLUBLE POLYMERIC FILM, AND FROM A TRANSCUTANEOS THERAPEUTIC SYSTEM

The kinetics were studied, of the in vitro liberation and of bioavailability of nitroglycerin from pharmaceutical preparations for cutaneous application : a lipophillic onguent, hydrogel, a polymeric film made of methylcellulose, and a transdermal therapeutic system which is commercially available (Nitroderm TTS, Ciba-Geigy). Kinetics were evaluated, of the liberation of nitroglicerin from onguent and gel, and it was found to be in accordance to diffusion from the matrix, with higher values for hydrogel. Liberation from the therapeutic system was equivalent to 4.18 mg/24 h, and from the hydrosoluble polymeric film it was 3.77 mg/24 h. The absorption velocity from the onguent was lower ($t_{1/2}abs$ = 43 min.), and from the hydrogel was higher ($t_{1/2}$ abs = 30 min.). With the aim to prevent anginal attacks the onguent appears to be adequate for repeated application at intervals of 4—6 hours, and the polymeric film can be applied at 12 hours intervals.

Helebrina
cardiotonic cu acțiune rapidă și de lungă durată

Georgeta Luca, Draga Todorov

Centrul de chimie, Timișoara

REZUMAT — *Lucrarea cuprinde rezultatele unor cercetări privind izolarea helebrinei din* Helleborus purpurascens, *ca și din ale unui studiu comparativ privind acțiunea cardiotonică și cardiotoxică a helebrinei față de strofantină și digoxină.*

Plante medicinale
Sistem cardiovascular

Helebrina este un glicozid natural, cu o pronunțată acțiune cardiotonică care se găsește în părțile subterane ale plantei Helleborus.

Folosirea în tratamentul diferitelor maladii a plantei *Helleborus* se cunoaște încă din antichitate.

Meritul izolării unui compus cu acțiune cardiotonică, ca substanța pură, îi aparine lui W. Karrer /1/, care a izolat din *Helleborus niger* un compus cu formula chimică $C_{36}H_{25}O_{15}$, denumit „helebrină". În U.R.S.S. s-a extras Corelborina K din *Helleborus caucazicum* și Corelborina P din *Helleborus purpurascens (2).*

Firma Hoffman la Roche a comercializat helebrina sub denumirea „Hellborzid" iar în țara noastră s-a valorificat în jurul anilor 1951 helebrina obținută din *Helleborus purpurascens,* sub denumirea de „Helecard" (3).

Studiile clinice efectuate cu preparatul Helecard au confirmat concluziile lucrărilor similare realizate cu Hellborzid și Corelborina P.

Structură ; proprietăți ; obținere

În 1974, J. Schmutz (4) a stabilit următoarea structură chimică helebrinei : 3(β D-glucozil-α L-ramnozil)-5 β, 14 β-dihidroxi-bufa-20, 22 dienolidă (fig. 1).

Structura agliconului helebrinei (fig. 1) este aproape identică cu cea a strofantidinei (fig. 2 (agliconul strofantinei K), ceea ce explică în bună parte analogia proprietăților cardiotonice.

Helebrina :

— Formula C_{36} $H_{52}O_{15}$.
— Masa moleculară : 724,4.
— Aspect : pulbere albă, cristalină,

fără miros, cu gust foarte amar, toxică.

— Punctul de topire : 280—284°C

— Puterea rotatorie specifică : $[\alpha]^{20} = -23{,}4 \pm 2°$ (c = 1 g/100 ml metanol 60%)

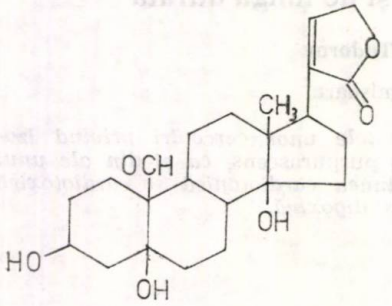


Fig. 1. — Structura chimică a helebrinei

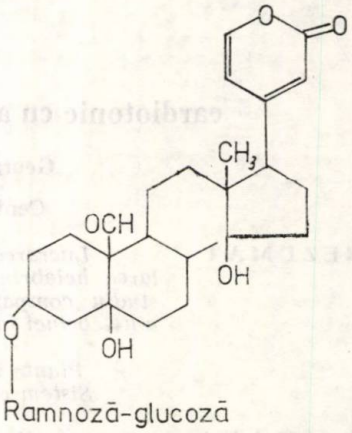


Fig. 2. — Structura chimică a strofantidinei

— Solubilă în metanol, foarte solubilă în metanol 60%, greu solubilă în apă, ser fiziologic, practic insolubilă în eter și cloroform.

Obținere : Helebrina se obține din rădăcina și rizomii de *Helleborus purpurascens,* bine mărunțite. Materia primă se supune unor operații de degresare cu benzină de extracție sau hidrocarburi pure C_6—C_8 (hexan, octan) ca atare sau în amestec. Din rădăcina degresată, helebrina se obține printr-o succesiune de operații de extracție solid-lichid cu metanol 90%, urmate de extracții selective lichid-lichid cu hidrocarburi ușoare și derivați cloruraţi ai metanului. Purificarea helebrinei se face prin recristalizare din metanol 60% (5).

Helebrina-cardiotonic cu acțiune asemănătoare cu strofantina și digoxina

Se cunosc în literatură peste 50 de compuși naturali de origine vegetală, cu acțiune specifică asupra mușchiului inimii. În funcție de natura inelului lactonic nesaturat legat în poziția C_{17} a scheletului steroidic, acești compuși aparțin clasei Cardenolidelor (inel lactonic nesaturat cu 5 atomi) sau clasei Bufadienolidelor (inel lactonic dublu nesaturat cu 6 atomi).

Din clasa Cardenolidelor, cea mai mare valoare terapeutică o au glicozidele de tip Digitală, extrase din genurile *Digitalis,* respectiv de tip strofantină, extrase din genurile *Strophantus.* Din clasa Bufadienolidelor merită menționate glicozidele cardiotonice de tip Scila izolate din *Scila maritima* (6).

Helebrina, glicozidul cardiotonic din clasa bufadienolidelor (I), izolat din genurile de *Helleborus*, se aseamănă prin acțiunea cardiotonică cu strofantina, prin aceea că acțiunea se instalează rapid și instantaneu, și cu digoxina, prin acțiunea de lungă durată și acumularea în organism (7, 8, 9).

Cercetările privind distribuirea helebrinei în țesuturi și organe, ca și eliminarea prin urină au evidențiat următoarele : după 24 ore de la întreruperea administrării se mai găsește în mușchiul cardiac 83,9% din concentrație de vîrf a helebrinei, iar după 6 zile se decelează doar urme ale substanței (10).

Un studiu al activității cardiotonice și cardiotoxice a helebrinei comparativ cu strofantina și digoxina (11) a relevat următoarele concluzii :

1. Helebrina în doze de 0,1—0,8 μg/ml determină un efect inotrop pozitiv pe miocardul ventricular izolat, efect maxim la doza de 0,3 μg/ml.

2. Efectul cardiotoxic al helebrinei apare la doza de 1 μg/ml, iar în intervalul 1 μg/ml—3 μg/ml helebrina are o activvitate toxică mai ridicată decît strofantina și digoxina.

3. Toxicitatea celor trei glicozide cardiotonice este comparabilă ca ordin de mărime : (12).

Helebrina : DL_{50} = 0,104 mg/kilocorp ;
Strofantina : DL_{50} = 0,128 mg/kilocorp ;
Digoxina : DL_{50} = 0,280 mg/kilocorp.

4. Helebrina se dovedește un toxic puternic pentru cîine și pisică la administrare orală, iv, ip. și are o toxicitate mai mică la șoareci și șobolani. La cobai, acțiunea cardiotoxică a helebrinei este asemănătoare digitalei.

5. În doze mari, helebrina are efect toxic hepatic și în măsură mai redusă renal.

CURBE DOZA EFECT

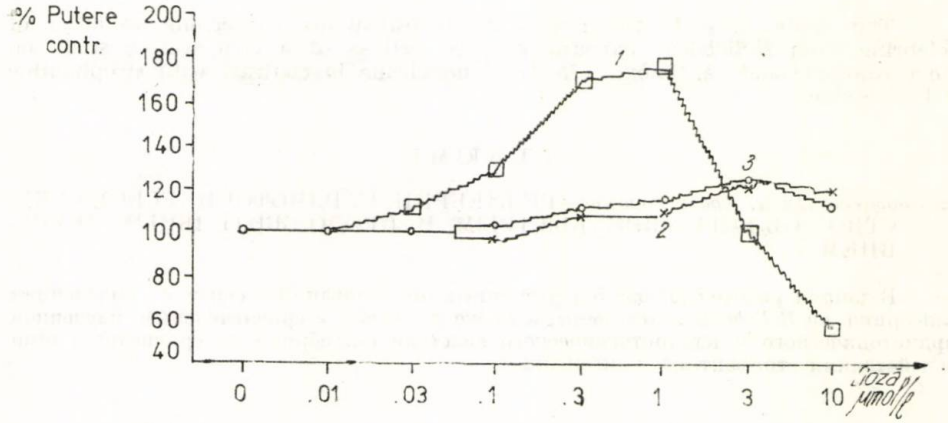


Fig. 3. — Curbele doză-efect pentru helebrin[a] (1), digoxină (2) și strofantină (3).

CONCLUZII

— Helebrina este un compus cu acțiune cardiotonică, activă atît iv. cît și *per os*.

— Dozele terapeutice optime sînt : 0,25—0,30 mg/zi pe cale i.v. 0,2 mg/os o dată pe zi.

— Helebrina manifestă un efect pozitiv inotrop la doze sensibil mai reduse decît strofantina și digoxina (0,03—0,3 μmol/l), față de trofantină : 3 μmol/l și digoxină : 1,0 μmol/l (fig. 3).

— Creșterea puterii de contracție a miocardului se obține la helebrină la doze de 10 ori mai scăzute decît la strofantină și digoxină.

— Puterea de relaxare la helebrină este comparabilă cu cea manifestată de digoxină sau strofantină, dar la doze mai mici.

BIBLIOGRAFIE

1. KARRER W. — *Helv. chim. Acta*, 1943, *26*, 1 353
2. ANGARSKAIA M. A. — *Pharmakol. Toxikol.*, 1953, *5*, 46—49
3. CIONGA E., MORGAN S. — Referat asupra Helecardului, Institutul de Cercetări Farmaceutice
4. SCHMUTZ J. — *Helv. chimica Acta*, 1947, *22*, 373
5. * * * — Brevet R.S.R. 88544, martie 1984 (cl. A61K 35/78 ; Co7N 15/24)
6. DANIELOPOLU D. — Probleme de farmacodinamie specifică vol. II, 1954.
7. SCHERF D. — *Med. Klin.*, 1937, *33*, 20
8. GROSSMANN M., BENZON S. — *Schweiz. Wschr.*, 1940, *70*, 251.
9. RUPPERT O. — *Med. Klin.*, 1950, 45534.
10. GHERDAN A. — Cercetări farmacologice asupra helebrinei la animale, I. A. Timișoara 1984.
11. CRISTESCU AL. BĂLĂCEANU L. — Testarea activității cardiotonice și cardiotoxice a helebrinei, I. M. Timișoara, 1984
12. PETRICIC J. — *Acta pharm. jugoslav.*, 1974, *24*.

Articol intrat în redacție la 6.I.1986

Indicele de clasificare : 615.779.26—017.11

SUMMARY

Georgeta Luca, Draga Todorov — HELEBRINE, A RAPID-ACTING, LONG-DURATION CARDIOTONIC DRUG

The study presents the results of investigations concerning isolation of helebrine from *Helleborus purpurascens*, as well as of a comparative study on the cardiotonic and cardiotoxic effects of hellebrine in contrast with strophantine and digoxine.

РЕЗЮМЕ

Джорджета Лука, Драга Тодоров—ГЕЛЛЕБРИН, КАРДИОТОНИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ БЫСТРЫМ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

В данной работе сообщаются результаты исследований в связи с выделением геллебрина из *Helleborus purpurascens*, а также и в связи с сравнительным изучением кардиотонического и кардиотоксического действий геллебрина, по сравнению с теми же действиями строфантина и дигоксина.

Anodic polarographic determination of Etamcylate (Dicynone) with the help of the self-cleaning rotating electrode (SRE)

V. C. Noninski — Higher Institute of Chemical Technology LEPGER, Sofia 1156, Bulgaria

E. B. Sobowale, L. A. Dryanovska-Noninska — Medical Academy, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Sofia 1000, Bulgaria

SUMMARY *Results are presented for the anodic behaviour of diethylamine of 2,5-dihidroxybenzensuluhonic acid known as Etamcylate or Dicynone on gold self-cleaning rotating electrode (SRE). Two waves are observed on the anodic polarogram of this substance which can be applied for analytical purposes.*

INTRODUCTION

Diethylamine of 2,5-dihydroxybenzenesulphonic acid known as Etamcylate or Dicynone is an efficient antihaemorrhagic substance for whose determination thin layer chromatography (TLC), UV spectroscopy, cerimetry (1) and high performance liquid chromatography (HPLC) (2) are applied. A possibility to determine this substance gave the anodic polarographic method using the self-cleaning rotating electrode (SRE) which has already been successfully applied by us for the determination of other pharmaceutical substances (3). Polarographic method has not been used until now for the determination of Etamcylate though papers on voltammetry of various hydroquinones are known (4—6).

The experimental set-up was described in (3). The chemicals used were of p.a. qualification. The pure Etamcylate was in powder form. The tablets of Etamcylate were obtained from the Technology Department of the Faculty of Pharmacy, Medical Academy, Sofia. As supporting electrolyte mainly Britton-Robinson buffer (BRB) was used. When necessary the pH of the buffer was corrected with 2 M NaOH.

The procedure for the preparation of the stock solution was the following : 100,0 mg of pure Etamcylate were weighed and then placed in 50 ml volumetric flask containing about 30 ml BRB. The content was stirred for about 5 minutes, more buffer was added to the mark and again stirred.

The determination of Etamcylate tablets began by weighing five tablets and the mean weight of a single was determined. Then the five tablets were ground in a mortar and 100,0 mg of the obtained powder was weighed. The weighed powder was dissolved in 50 ml BRB.

After the polarogram of the supporting electrolyte was obtained starting from 0,0 V, 0,5 ml of the stock solution was added to obtain the next polarogram starting again from 0,0 V. From the obtained waves the standard line of the wave height versus the concentration was constructed.

Coulometric investigations similar to those described in (3) were also carried out.

RESULTS AND DISCUSSION

The polarograms of Etamcylate obtained on gold SRE consist of two waves whose half-wave potentials, $E_{1/2}$, are 0,400 V and 0,835 V resp. In fig. 1 five waves of Etamcylate are shown, taken one after the other without the pretreatment of the electrods. From fig. 1 is seen thal the polarograms of this substance obtained with the SRE are very well reproductible. The good reproductibility of the obtained waves gave us the base for calling the method when using SRE polarography, unlike the term voltammetry commonly used for solid electrodes in such cases.

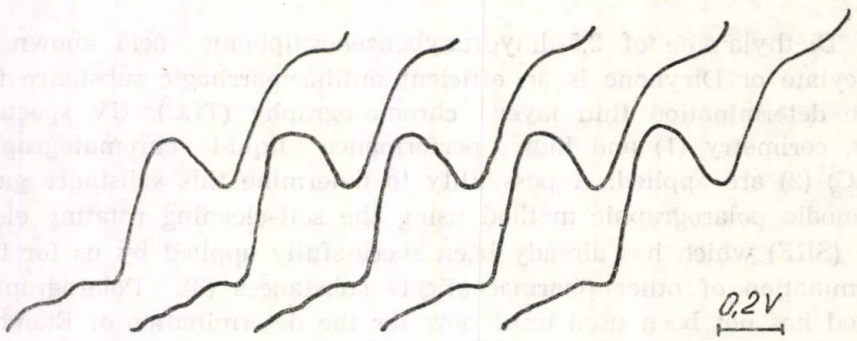


Fig. 1 — Polarograms of 1.10^{-4} M Etamcylate (Dicynone) in Britton-Robinson buffer taken on gold SRE at 50 Hz rotation rate and 10 mV/s potential sweep rate.

To determine the character of the current of these waves polarograms were taken at different rotation rates, n, of the SRE shown in fig. 2a. From fig. 2b is seen that the dependence of the height of the waves, h, as a function of $n_{1/2}$ of the first 1 and second 2 waves separately as well as the sum of the two wave heights 3 are linear. This fact is an indication of the diffusion limitation of the current of both waves.

In fig. 3 waves taken at different concentration of Etamcylate are presented. The dependence of the wave heights as a function of Etamcylate concentration is linear and these waves can be used for quantitative determinations. For such either the first or second or the combination of both waves can be used. Polarographic waves of Etamcylate can be observed down to concentration of the order of 10^{-6}M.

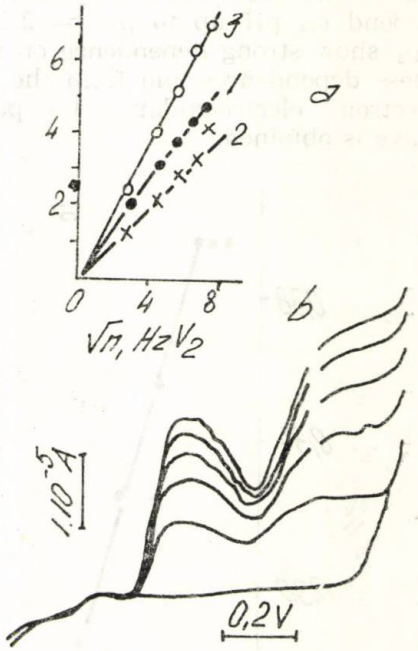


Fig. 2 — Polarograms of Etamcylate of 1.10^{-4} M concentration in BRB at SRE rotation rate resp.: 10, 20, 30, 40 and 50 Hz. The first wave from the bottom is the curve of the supporting electrolyte. The insertion in the figure shows the height of the first 1, the second 2 and the sum of the first and the second 3 waves as a function of the square root of the SRE rotation rate.

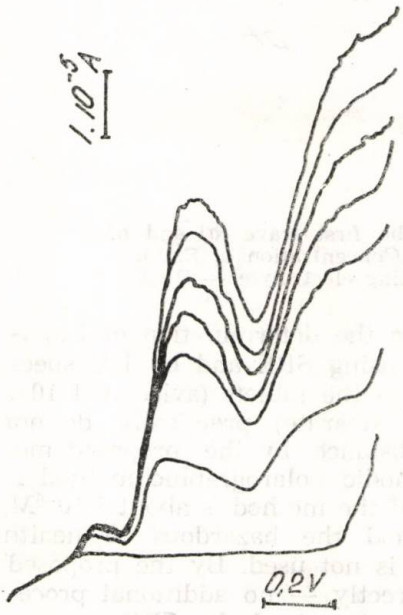


Fig. 3 — Polarograms of Etamcylate of different concentration (from $2{,}2.10^{-4}$ M to $1{,}2.10^{-3}$ M) on gold SRE in BRB. Rate of the SRE rotation — 50 Hz.

Some investigations were carried out in connection with the study of mechanism of Etamcylate electrooxidation. To determine the number of electrons participating in this reaction coulometric investigations were carried out. They showed that during the electrooxidation of Etamcylate one electron is involved both with the first and the second wave.

In fig. 4a and b the $E_{1/2}$ of Etamcylate waves as a function of buffer pH are shown. $E_{1/2}$ of the first and the second waves do not depend on pH up to pH = 2,4 and 3,5 resp. After these pH values $E_{1/2}$ show strong dependence on pH which is linear. From the slopes of these dependences and from the coulometric investigations showing one electron electrooxidation the participation of one proton with each wave is obtained.

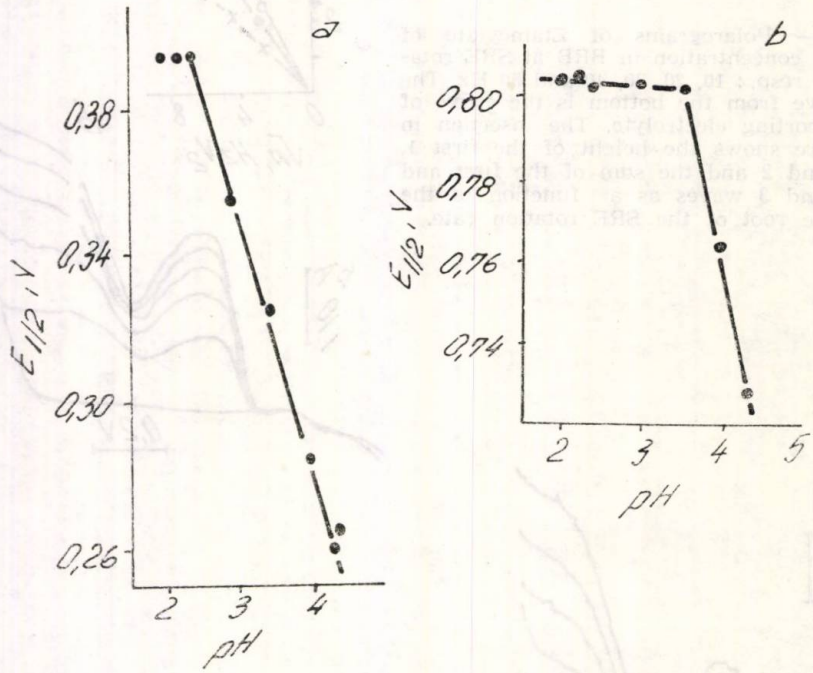


Fig. 4 — Half-wave potentials, $E_{1/2}$, of the first wave *(a)* and of the second wave *(b)* as a function of pH. Concentration of Etamcylate in the solution — $1{,}10^{-4}$ M. Supporting electrolyte — BRB.

In table I results are presented from the determination of Etamcylate in tablets by anodic polarography using SRE and by UV spectroscopy. It was found that the additives in the tablets (avicel PH 101, aerosil, PVP K-25, talc and magnesium stearate) practically do not interfere in the determination of the substance by the proposed method. From the table is seen that the anodic polarographic method is good reproductibility. The detection limit of the method is about 5.10^{-6}M. We should also note that in this method the hazardous to health mercury usually applied in polarography is not used. By the proposed method Etamcylate can be determined directly — no additional procedures such as extraction, filtration, pretreatment of the SRE or pur-

ging with inert gas are necessary. It makes the method suitable for serial determinations.

Table I

Precision data for the determination of Etamcylate in tablets by anodic polarography using SRE and UV spectroscopy

Method	*Quantity found for a tablet, mg*	*SD**, mg	RSD, %	Confidence limits**
Polarography	248,3	2,92	1,18	248,3±3,13
UV spectroscopy	243,9	6,41	2,63	243,9±6,88

* For five determinations
** Probability level = 0,95
N.B. A tablet was stated to contain 250,0 mg Etamcylate.

REFERENCES

1. NEGRITESCU S., BELU D., DRĂGOI R., SISMAN E., COSMIN A., CANDIDATU A., GREGORESCU D. — *Rev. Chim. (Bucharest)*, 1979, *30*, 912.
2. JANWEN MA, LIU YUPO, YAOWU — *Fenxi Zazhi*, 1984, 4(4), 209.
3. NONINSKI V. C., SOBOWALE E. B. — *Farmacia (Sofia)*, in press.
4. MEIER E. P., CHAMBERS J. D., CHAMBERS C. A., EGGINS B. R., LIAO C. S. — *J. Electroanal Chem.*, 1971, *33*, 409.
5. BAILEY S. I., RITCHIE I. M. — *Electrochem. Acta*, 1985, *30*, 3.
6. SASAKI K., TAKEHIRA K., SHIBA H. — *Electrochem. Acta*, 1968, *13*, 1623.

Articol intrat în redacție la 21.X.1985

Indicele de clasificare : 615.778.474—017.715 :545.33

РЕЗЮМЕ

В. К. Нонински, Е. Б. Собовале, Л. А. Дрianовска-Нонинска — ПОЛАРОГРАФИЧЕСКОЕ АНОДНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭТАМЕИЛАТА (ДИЦИНОН) С ПОМОЩЬЮ САМООЧИЩАЮЩЕГОСЯ ВРАЩАЮЩЕГОСЯ ЭЛЕКТРОДА (SRE)

Сообщаются результаты в связи с анодным образом действия 2,5 дигидроксибензенсульфонового диэтиламина, т.е. кислоты известной под наименованием Этамцилата или Дицинона, при помощи золотого вращающегося и самоочищающегося электрода (*gold self- cleaning rotating electrode SRE*).

На анодной полярограмме этого вещества было отмечено наличие двух извилин. Метод может быть использован в аналитических целях.

REZUMAT

V. C. Noninski, E. B. Sobowale, L. A. Dryanovska-Noninska — DETERMINAREA ANODICĂ POLAROGRAFICĂ A ETAMCYLATE-ULUI (DICYNONE) CU AJUTORUL ELECTRODULUI ROTATIV AUTOPURIFICATOR — *SELF-CLEANING ROTATING ELECTRODE (SRE)*

Sînt prezentate rezultatele asupra comportării anodice a diethylaminei 2,5-dihidroxybenzensulfonic, acid cunoscut ca Etamcylat sau Dicynone cu electrod de aur rotativ autopurificator (*gold self-cleaning rotating electrode — SRE*).

S-au observat două ondulații pe polarograma anodică a acestei substanțe care poate fi aplicată în scop analitic.

REFERAT

CREŞTERI TRANZITORII REPETATE ALE CALCIULUI LIBER CITOPLASMATIC ÎN HEPATOCITE STIMULATE DE HORMON, **Niall M. Woods, R. S. Roy Cuthbetson,** *Nature*, 319, 6054, 1986, p. 600

În animalele stresate, vasopresina, angiotensina II şi ADR induc în celulele hepatice eliberarea glucozei din glicogen. Procesele biochimice cunoscute sînt următoarele : Na se leagă la receptorul adrenergic α_1. Receptorul modificat induce hidroliza fosfaditilinositolului 45 biofosfat, cu producerea inositoltrifosfatului şi diacilglicerolului. Inositoltrifosfatul mobilizează calciul intracelular în hepatocite. Modificări în concentraţia calciului activează o kinoză, care conţine calmodulina legată covalent. Această kinoză, la rîndul ei, activează glicogen-fosforilaza, a cărei activitate va fi funcţie de ratele de fosforilare şi defosforilare.

În articolul de faţă, autorii arată că răspunsul calciului liber la agoniştii enumeraţi constă dintr-o serie de creşteri trecătoare ale concentaţiei calciului urmate de descreşteri la fel de rapide.

Atingerea concentraţiei maxime (de cel puţin 600 uM) se face în 3 secunde. Concentraţia ridicată se menţine aproximativ 7 secunde. Aceste creşteri tranzitorii se repetă la intervale de 3—4 min, funcţie de concentraţia agonistului. Între perioadele de creştere, valoarea concentraţiei calciului se întoarce la o valoare de repaus de aproximativ 200 nM.

Este o posibilitate atractivă, arată autorii, ca frecvenţa creşterilor tranzitorii să determine intensitatea răspunsului celular la concentraţia hormonului, într-un domeniu fiziologic. Întrucît frecvenţa creşterilor tranzitorii este singurul parametru care variază cu concentraţia hormonului este posibil ca frecvenţa să determine rata glicogenolizei într-o celulă individuală.

Rasmussen şi Barrett au postulat că o creştere tranzitorie în calciul liber la nivele micromolare (10^{-6}M = 1 000 nM), urmată de o scădere la aproximativ 500 nM ar iniţia şi susţine activitatea calmodulinei fără a contribui la încărcare excesivă mitocondrială.

În hepatocite răspunsul calciului liber este mai complex decît cel schiţat mai sus, întrucît calciul atinge între creşterile tranzitorii, nivele de repaus ; mai mult, datele articolului de faţă oferă o explicaţie plauzibilă pentru absenţa supraîncărcării mitocondriale în celule stimulate cronic.

Campbell a avansat următoarea ipoteză : calciul acţionează ca un regulator intracelular pentru „fenomen de prag" („threshold phenomena") care sînt fie iniţiate fie stopate. Fiecare creştere tranzitorie a calciului respectă această ipoteză, în timp ce existenţa seriilor tranzitorii modulate în frecvenţă poate permite ca amplitudinea răspunsului glicogenolitic într-o singură celulă să varieze funcţie de concentraţia hormonului. Sînt indicaţii că fenomenul creşterilor tranzitorii în concentraţia calciului liber poate fi larg răspîndit în celule care utilizează calciul liber ca un mesager pentru liganzi extracelulari.

Gabriela Văduva

Compuși 1,3-disubstituiți ai 2-propanololului și propanonei cu acțiune analgezică

Aurelia Cristea *, Elena Bădău *, Aurelia Zafindravelo

Facultatea de Farmacie, București

REZUMAT

Au fost sintetizați 9 compuși, 1,3-disubstituiți ai 2-propanolului și propanonei, care au fost caracterizați fizic și spectral. S-au efectuat cercetări privind acțiunea analgezică și toxicitatea acută a compușilor sintetizați, stabilindu-se dozele eficace (DE_{50}), dozele letale medii (DL_{50}) și indicii terapeutici (IT).

Dintre compușii testați, 1,3-bis (N-benzosulfonimido)-2-propanona este cel mai activ din serie, avînd $^1/_2$ din potența analgezică a morfinei, indicele de securitate fiind de 3,7 ori mai mare.

Propan
Anestezice
Experiment
Chimie, farmacie

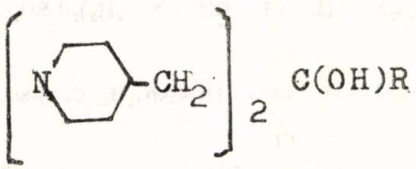
În lucrări anterioare (1, 2, 3) s-a constatat că analogi ai tremorinei, 1,4-dipirolidino-2-butinei și ai exotremorinei, 1-(2-oxo-1-pirolidino)-4-(1-pirolidino)-2-butinei, cum sînt α, α'-diaminoxilenii, α, α'-dilactamoxilenii și α, α'-diimidoxilenii, în moleculele cărora în locul triplei legături se găsesc nuclee benzenice, au acțiune anestezică.

Am considerat că și compușii cu molecule analoage, în care în locul triplei legături se află o grupă C—OH sau C=O, în molecula cărora oxigenul poate avea efectul atrăgător de electroni similar cu al triplei legături sau al nucleului benzenic asupra grupelor amino sau imido, ar putea avea acțiune analgezică.

Din literatura de specialitate se observă că derivați ai 1, 2, 3-triaminopropanului de formulă generală :

$$ArAr'NCH(CH_2NR_2)_2$$

și propanii substituiți, de formulă (formula din fig. 1) :



au diverse întrebuinţări farmacologice (4). De asemenea diferiţi 1,3-diaminopropanoli substituiţi au fost folosiţi în scopul obţinerii de compuşi fiziologic activi (5).

De aceea am considerat utilă, pe de o parte, sintetizarea 1,3-bis (dietilamino)-2-propanololului şi a 1,3-bis(dietilamino)-2-clor-propanului, compuşi menţionaţi în literatură (4, 6) dar necaracterizaţi şi netestaţi farmacodinamic, iar pe de altă parte, folosirea lor ca materii prime în scopul obţinerii de derivaţi necitaţi în literatura de specialitate şi cu eventuală activitate analgezică.

Căutînd să reproducem sinteza *1,3-bis(dietilamino)-2-propanololului* după datele din literatură, am constatat că randamentele sînt mici, datorită metodelor complicatede separae a produşilor de reacţie. Aceasta ne-a determinat să modificăm metoda de sinteză, folosind ca materii prime 1,3-diclor-2-propanol şi dietilamină (proaspăt distilată pe NaOH) în rapoarte molare de 1:5, în benzen anhidru ca solvent.

$$(C_2H_5)_2NH + ClCH_2-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}-CH_2-Cl \rightarrow$$

$$\rightarrow (C_2H_5)_2N-CH_2-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}-CH_2-\overset{+}{N}(C_2H_5)_2 + (C_2H_5)_2NH_2Cl^-$$

După încălzire timp de 18 ore la reflux şi răcire, masa de reacţie a fost supusă filtrării (pe filtru uscat), cînd se îndepărtează clorhidratul dietilaminei (amina secundară fiind mai bazică decît produsul de reacţie care este amină terţiară), iar filtratul a fost iar supus încălzirii timp de 18 ore. S-a filtrat din nou şi filtratul s-a supus iarăşi încălzirii la reflux. Operaţia s-a repetat de 3 ori, după care s-a adăugat filtratului dietilamină şi s-a încălzit la reflux încă 18 ore. În acest mod, practic, reacţionează tot 1,3-diclor-2-propanololul, produsul final de reacţie conţinînd în majoritate 1,3-bis (dietilamino)-2-propanol, produsul intermediar 1-clor-3-dietilamino-2-propanolul fiind în cantitate mică, ca şi 1,3-diclor-propanolul nereacţionat.

Filtratul a fost distilat la presiune redusă, culegîndu-se fracţia de la 109—111° la 7 mmHg, $n_D^{20} = 1{,}4620$, $d_4^{20} = 0{,}8835$, $\eta\% = 90$.

Sinteza 1,3-bis(dietilamino)-2-clor-propanului a fost realizată de Kotchetkov şi Vorotnikova (4), plecînd de la 1,3-bis-(dietilamino)-2-propanol, prin clorurare cu clorură de tionil în cloroform la 0°, separarea produsului necesitînd etape laborioase. Noi am simplificat metoda, realizînd sinteza în benzen, la o temperatură între 0 şi 3°. Din reacţie rezultă clorhidratul 1,3-dietil-amino-2-clor-propanului, ca urmare a reacţiei cu acidul clorhidric rezultat din reacţie, clorhidrat insolubil în benzen.

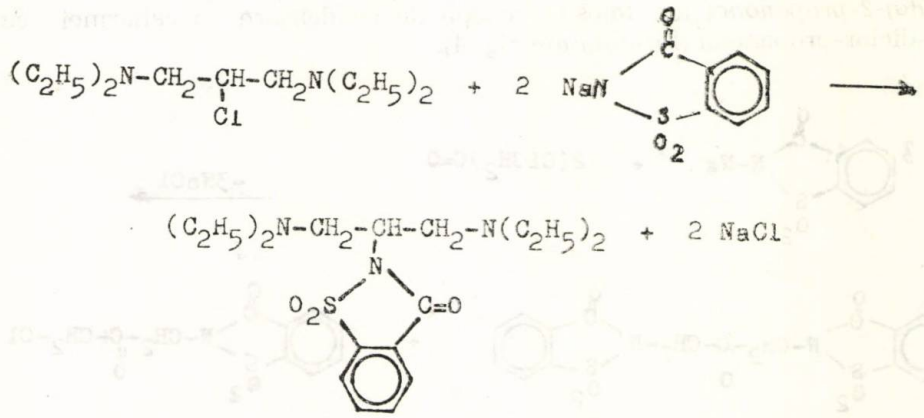
$$(C_2H_5)_2N-CH_2-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}-CH_2-N(C_2H_5)_2 + SO_2Cl_2 \rightarrow$$

$$(C_2H_5)_2N-CH_2-\underset{\displaystyle Cl}{\underset{|}{CH}}-CH_2-\overset{+}{N}(C_2H_5)_2Cl^- + SO_2$$

Clorhidratul se separă prin filtrare ; precipitatul a fost tratat cu o soluţie de carbonat de sodiu şi produsul de reacţie a fost extras cu benzen. După uscarea soluţiei benzenice pe NaOH, benzenul a fost în-

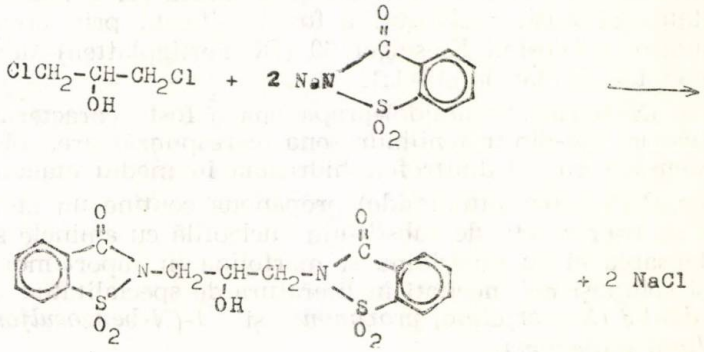
depărtat prin distilare, iar reziduul distilat la vid, culegîndu-se fracția cu temperatura de fierbere T. f. 106—107° la 7 mmHg, n_D^{20} =1,4535, d_4^{20}=0,8974, η% = 65.

Prin condensarea 1,3-bis-(dietilamino)-2-clor-propanului cu sarea de sodiu a imidei acidului o-sulfobenzoic (zaharina) am obținut *1,3-bis (dietilamino)-2(N-sulfobenzoimido)propranul.* Reația s-a efectuat în benzen, la temperatura de reflux, timp de 16 ore (formula din fig. 2).



Produsul de reacție a fost filtrat și spălat cu apă în porțiuni mici, cînd zaharina nereacționată și diamina se dizolvă. Precipitatul uscat are temperatura de topire 85°. Randament 71%.

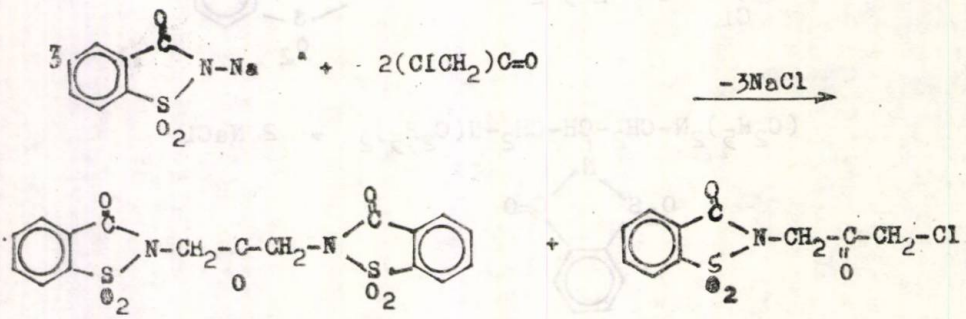
1,3-bis(benzosulfonimido)-2-propanolul s-a obținut plecînd de la 1,3-diclor-2-propanol, în care atomii de clor au o reactivitate ridicată nu numai față de aminele terțiare ci și față de sărurile de sodiu ale imidelor. Pentru aceasta am ales pentru condensare tot zaharina, care se obține industrial ca sare de sodiu (formula din fig. 3).



Ca solvent pentru această reacție de condensare s-a folosit un amestec de benzen și N-metilpirolidonă, care dizolvă în bună parte zaharina dar și 1,3-diclor-2-propanolul. După încălzire sub agitare la reflux, timp de

8 ore și răcire, amestecul de reacție a fost supus filtrării pentru a îndepărta clorura de sodiu formată. Produsul principal de reacție rămîne în filtrat. După îndepărtarea benzenului prin distilare, la restul lichidului s-a adăugat apă, și s-a distilat pentru îndepărtarea cu vapori de apă a N-metilpirolidonei. Uleiul rămas se dizolvă în acetonă, din care precipită 1,3-bis(benzosulfonimido)-2-propanolul. T. t. 208°. η % 68.

Încercarea de a oxida 1,3-bis(N-benzosulfonimido)-2-propanolul la cetona corespunzătoare a dus la randamente slabe, cînd s-a folosit bicromatul de potasiu. De aceea, pentru obținerea *1,3-bis(N-benzosulfonimido)-2-propanonei* am folosit reacția de condensare a zaharinei cu 1,3-diclor-propanonă (formula din fig. 4).



Cu toate că s-a folosit un raport molar de 2:1 zaharină : diclorpropanonă, alături de produsul de condensare simetric s-a obținut ca produs secundar 1-clor, 3-(N-benzosulfonimido)-propanona.

Reacția s-a realizat în metil-etil-cetonă prin încălzire la reflux 16 ore. Amestecul de reacție după filtrare, spălare cu apă și uscare se supune cristalizării fracționate din MEC. Inițial cristalizează produsul disubstituit, care se filtrează și după uscare are temperatura de topire 225°; după 24 ore se filtrează din nou. Produsul solid conține un amestec. Filtratul este concentrat prin distilare. După răcire se depune produsul monosubstituit, care se filtrează și se usucă (T. t. 136—138°).

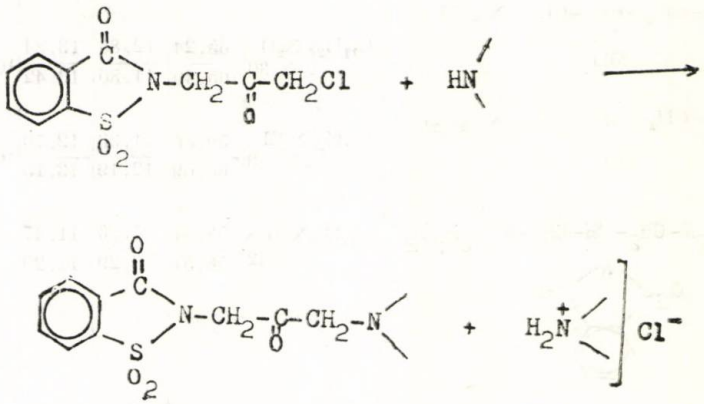
Puritatea produșilor obținuți a fost verificată prin cromatografie în strat subțire, folosind Kieselgel 60 (DC-Fertigplatten)-Merck și ca eluent metanol — acetat de etil 1:1.

1,3-bis (N-benzosulfonimido)-propanona a fost caracterizată prin transformare în 2,4-dinitrofenilhidrazona corespunzătoare, obținută în urma condensării cu 2,4-dinitrofenilhidrazina în mediu etanolic.

1-Clor, 3-(N-benzosulfonimido) propanona conține un atom de clor activ, care dă ușor reacții de substituție nucleofilă cu aminele secundare. Prin condensarea ei cu piperidina și morfolina în raport molar 1:2 am obținut doi compuși noi, necitați în literatura de specialitate : *1-(N-benzosulfonimido)-3-(N-morfolino)-propanona* și *1-(N-benzosulfonimido)-3-(N-piperidino)-propanona.*

Condensarea s-a realizat în benzen, prin încălzire la reflux timp de 3 ore. Separarea produșilor din mediu de reacție s-a realizat prin filtrare și spălare pe filtru de mai multe ori cu apă, pînă la îndepărtarea clorhidraților aminelor, obținuți ca produse secundare (formula din fig. 5).

În tabelul I sînt prezentate formulele de structură ale compușilor sintetizați, rezultatele analizei elementare de carbohidrogen și azot și temperaturile de topire. Rezultatele analizei elementare confirmă formulele moleculare, deduse din ecuațiile reacțiilor chimice de sinteză.



CARACTERIZĂRI SPECTRALE

Structura compușilor sintetizați a fost confirmată de rezultatele analizei spectrale în infraroșu.

În spectrele tuturor compușilor sintetizați sînt prezente benzi datorate vibrațiilor de valență νCH ale grupelor CH_2 din vecinătatea atomilor de azot, benzi care nu se întîlnesc la hidrocarburi.

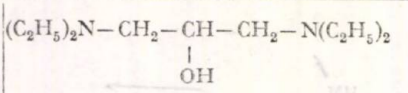
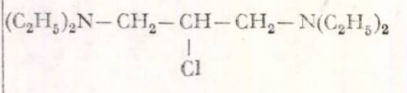
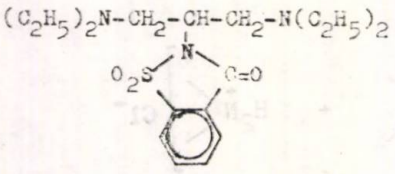
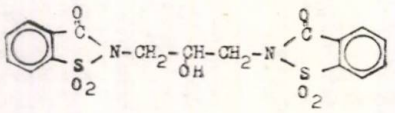
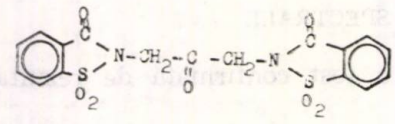
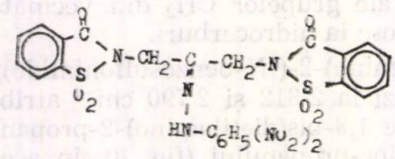
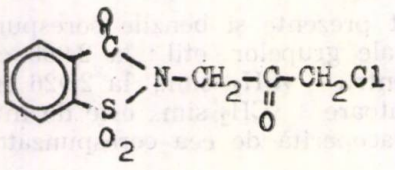
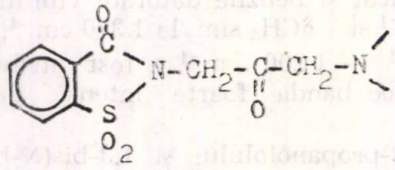
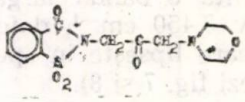
Astfel, în spectrul 1,3-bis(dietilamino)-2-(-N-benzosulfonimido)propanului (fig. 6) sînt prezente două benzi la 2 812 și 2 790 cm^{-1} atribuite acestor vibrații, în timp ce în spectrele 1,3-bis(dietilamino)-2-propanolului (fig. 7) și 1,3-bis(dietilamino)-2-clor-propanului (fig. 8), în această regiune se află o singură bandă, la 2 800 cm^{-1}.

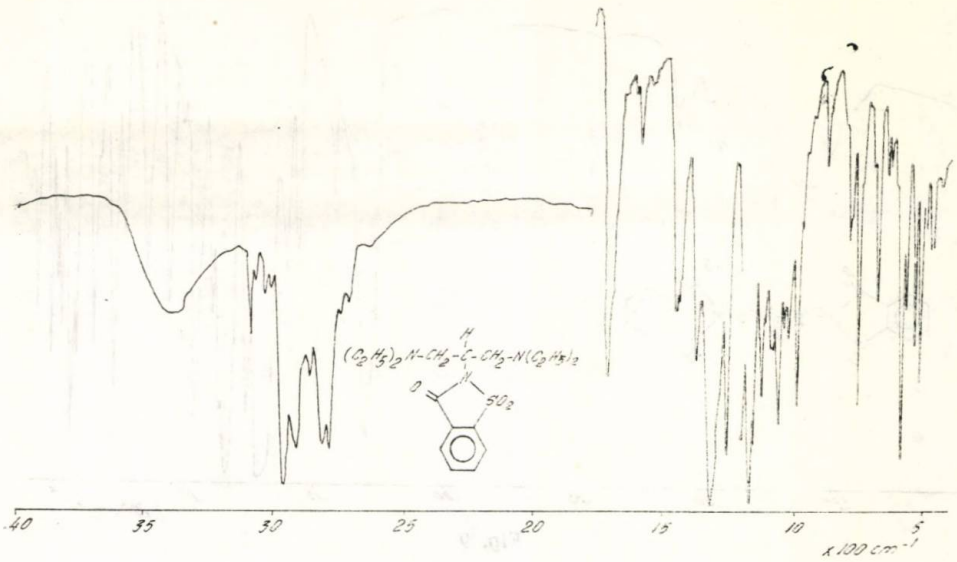
În spectrele acestor compuși sînt prezente și benzile corespunzătoare vibrațiilor de valență νC—H ale grupelor etil : la 2 960 cm^{-1} pentru νCH_3 asim, la 2 870 cm^{-1} pentru νCH_3 sim., la 2 926 cm^{-1} pentru νCH_2 asim. Banda corespunzătoare νCH_2 sim., este de intensitate mai mică și la primul compus acoperită de cea corespunzătoare vibrației νCH_3 sim. de la 2 870 cm^{-1}.

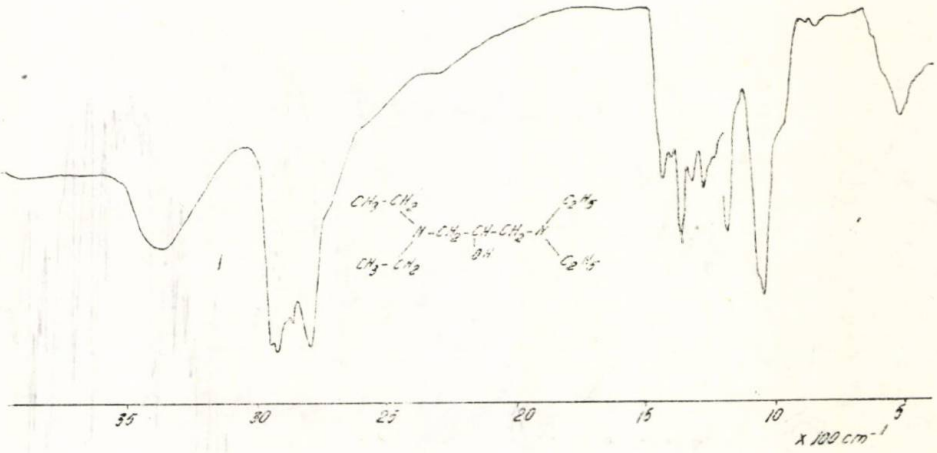
În zona de amprentă s-au identificat și benzile datorate vibrațiilor de deformație δCH_3 asim. la 1 435 cm^{-1} și δCH_3 sim. la 1 370 cm^{-1}.

Banda intensă de la 1 195 cm^{-1} — 1 200 cm^{-1} a fost atribuită vibrațiilor de valență C—N, în timp ce banda foarte intensă de la 1 050 cm^{-1} vibrației ρCH_3.

În spectrele 1,3-bis(dietilamino)-2-propanololului și 1,3-bis(N-benzosulfonimido)-2-propanololului este prezentă o bandă largă cu maximum de absorbție la 3 335 cm^{-1}, respectiv 3 450 cm^{-1}, datorată vibrațiilor de valență νOH asociate, bandă care lipsește în spectrele altor compuși în care grupa OH nu mai există (vezi fig. 7 și 8).

Nr. crt.	Formula de structură	Formula moleculară	C% calc. / găsit	H% calc. / găsit	N% calc. / găsit	T.t. sau T.F. °C
1		$C_{11}H_{26}N_2O$ 202,30	65,24 / 65,40	12,85 / 11,80	13,84 / 13,42	108°/6 mmHg
2		$C_{11}H_{25}N_2Cl$ 220,53	59,86 / 60,09	11,33 / 12,19	12,70 / 13,15	103°/6 mmHg
3		$C_{18}H_{29}N_3O_3S$ 367,42	58,81 / 58,51	7,95 / 8,29	11,47 / 11,20	85°
4		$C_{17}H_{14}N_2O_6S$ 422,61	48,31 / 48,66	3,33 / 3,66	6,62 / 6,38	208°
5		$C_{17}H_{12}N_2O_7S_2$ 420,41	48,56 / 48,59	2,87 / 3,02	6,66 / 6,27	203°
6		$C_{23}H_{16}N_6O_{10}S_2$ 600,02	46,00 / 45,82	2,66 / 2,52	14,99 / 14,06	272°
		$C_{10}H_8NO_4SCl$ 273,51	43,91 / 43,12	2,92 / 2,70	5,11 / 5,14	145°
8		$C_{15}H_{18}N_2O_4S$ 322,02	55,89 / 55,64	5,58 / 5,42	8,69 / 8,78	224°
9		$C_{14}H_{16}N_2O_5S$ 324,01	61,85 / 52,13	4,93 / 5,02	8,64 / 8,48	222°


40
35
30
25
20
15
10
5
x 100 cm⁻¹


35
30
25
20
15
10
5
x 100 cm⁻¹

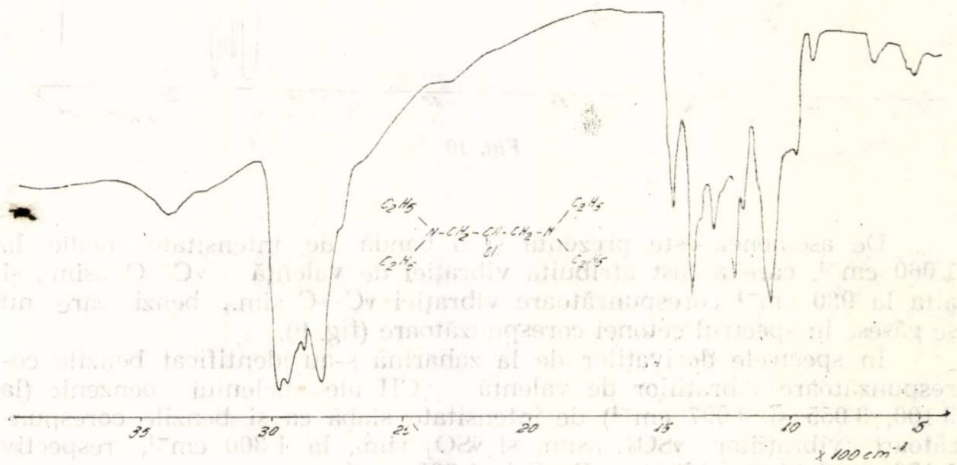

35
30
25
20
15
10
5
x 100 cm⁻¹

Fig. 6, 7, 8

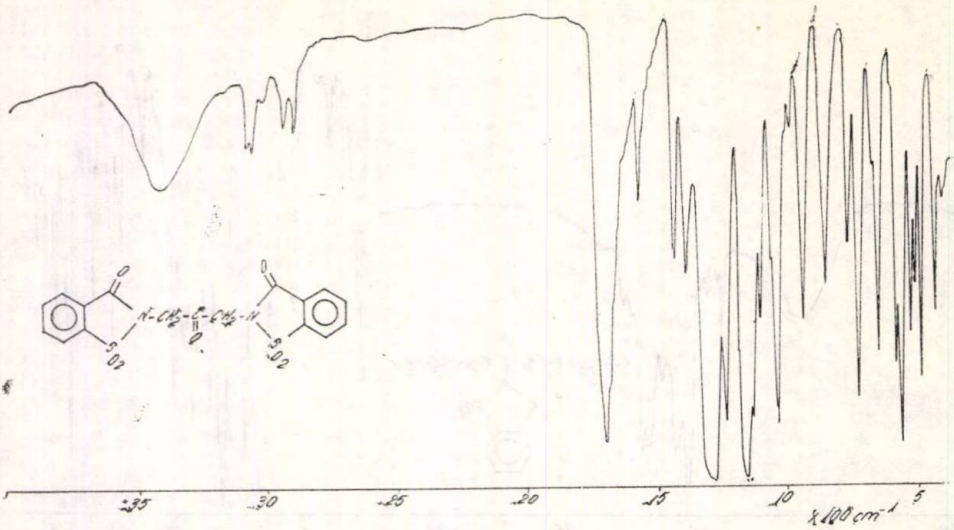


Fig. 9

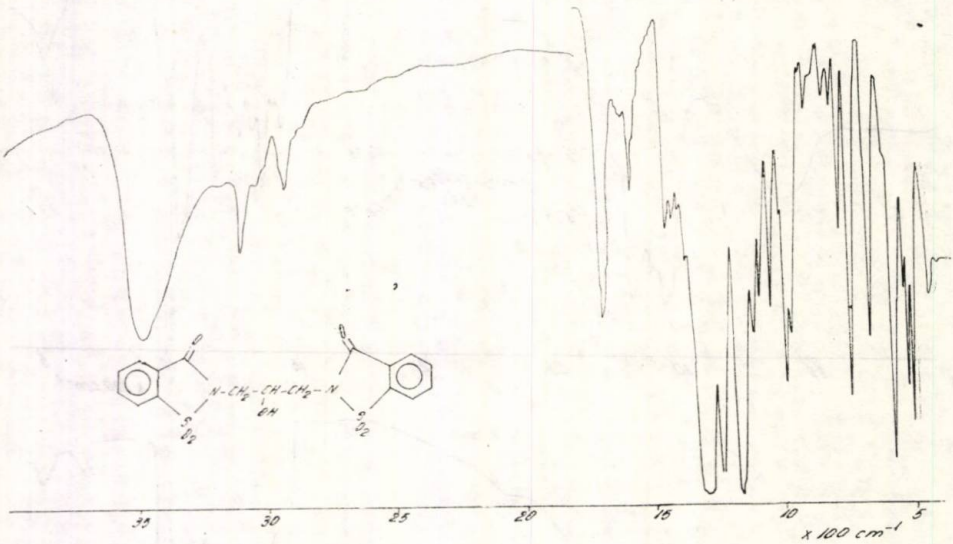


Fig. 10

De asemenea este prezentă și o bandă de intensitate medie la 1 060 cm^{-1}, care a fost atribuită vibrației de valență $\nu C—O$ asim., și alta la 980 cm^{-1} corespunzătoare vibrației $\nu C—C$ sim., benzi care nu se găsesc în spectrul cetonei corespunzătoare (fig. 9).

În spectrele derivaților de la zaharină s-au identificat benzile corespunzătoare vibrațiilor de valență γCH ale nucleului benzenic (la 3 100, 3 055 și 3 007 cm^{-1}) de intensitate slabă ca și benzile corespunzătoare vibrațiilor νSO_2 asim. și νSO_2 sim., la 1 300 cm^{-1}, respectiv 1 170 cm^{-1} (figura 10) și $\nu C=O$ la 1 700 cm^{-1}.

CERCETĂRI FARMACOLOGICE

Au fost efectuate cercetări privind acțiunea analgezică și toxicitatea acută a compușilor sintetizați, stabilindu-se dozele eficace (DE_{50}), dozele letale medii (DL_{50}) și indicii terapeutici (IT).

METODOLOGIE

S-a lucrat pe șoareci albi în greutate de 20 ± 3 g.

Toxicitatea acută a fost urmărită timp de 72 ore. Pentru studiul acțiunii analgezice s-au utilizat trei teste, care explorează verigi diferite ale căilor sensibilității dureroase : stimulul chimic (acid acetic 0,6% administrat ip. 0,1 ml/10 g greutate corporală), stimulul caloric (apă caldă la 50°, în care se introduce coada animalelor) și stimulul mecanic (pensă aplicată la baza cozii). DE_{50} și DL_{50} a fost determinată prin metoda grafică (7, 8).

Compușii nr. 1 și 2 fiind în stare lichidă și miscibili cu uleiul de floarea soarelui au fost administrați sub formă de emulsii U/A, preparate după tehnica din F.R. ed. a IX-a.

Compușii nr. 3—9 fiind în stare solidă și insolubili în apă au fost administrați sub formă de suspensii în apă, preparată cu gumă arabică.

Animalele martor au fost tratate cu emulsii U/A și respectiv suspensie de gumă arabică în apă.

Toate administrările au fost făcute *per os*, în volume de 0,1 ml/10 g greutate corporală.

Cercetările s-au efectuat comparativ cu morfina.

Testările asupra acțiunii analgezice au fost efectuate în lunile aprilie—mai, strict în intervalul de timp de la orele 11,00—14,00.

REZULTATE

Toți cei 9 compuși testați au prezentat acțiune analgezică, la doza de 10 mg/kilocorp — *per os*, în testul stimulului nociceptiv chimic (tabelul I).

Pentru continuarea cercetărilor au fost selecționați compușii nr. 2, 3, 5 și 7.

Tabelul II

Acțiunea analgezică la șoarece (per os)

Nr. comp.	*Doza (mg/kilocorp)*	*Acțiunea analgezică (%)*	
		Test stimul chimic	*Test stimul caloric*
1	10	34,90	—
2	10	61,37	101,01
3	10	58,74	138,10
4	10	52,70	—
5	10	75,94	94,74
6	10	56,25	—
7	10	53,68	40,02
8	10	40,90	—
9	10	54,24	—
Morfina	5	72,49	154,60

Acțiunea analgezică a compușilor selecționați s-a evidențiat și prin testul stimulului nociceptiv caloric (vezi tabelul II).

Dozele eficace medii analgezice (DE_{50}), stabilite în testul stimulului chimic, au fost sub mg/kilocorp — șoarece, *per os* (tabelul III). Cel mai activ compus s-a dovedit a fi 1,3-bis-(N-benzosulfonimido)-2-propanona (compusul nr. 5), avînd DE_{50} = 4,365 mg/kilocorp — *per os*. Mordina avînd în același test și condiții DE_{50} = 1,820 mg/kilocorp — *per os*, potența analgezică relativă față de morfină a compusului nr. 5 s-a calculat: P = 0,416 ($\simeq$ $^1/_2$).

Tabelul III

Determinarea DE_{50}. Testul stimulului chimic

Nr. comp.	*Doza (mg/kilocorp)*	*Acțiune analgezică (%)*	*DE_{50} (mg/kilocorp)*
2	5	29,60	
	10	58,91	8,414
	20	72,50	
3	5	37,13	
	10	50,29	9,772
	20	64,61	
5	2,5	31,34	
	5	58,12	4,365
	10	67,59	
7	5	33,43	
	10	53,90	9,441
	20	64,64	
Morfina	1,25	39,48	
	2,50	59,87	1,820
	5	72,49	

Acțiunea analgezică a 1,3-bis(-N-benzosulfonimido)-2-propanonei s-a verificat și în testul pensă-coadă, în care a avut o acțiune maximă de 30% la doza de 20 mg/kilocorp, s.c.

În acest test acțiunea morfinei a fost de 50%, la doza de 12,5 mg/kilocorp s.c.

Toxicitatea acută a celor patru compuși selecționați a fost mult mai redusă decît toxicitatea morfinei (tabelul IV).

Tabelul IV

Toxicitatea acută la șoarece (per os)

Nr. comp.	*Doze (mg/kilocorp)*			*Letalitate (%)*			*DL_{50} (mg/kilocorp)*
2	800	1 600	3 200	0	20	100	1 950
3	400	800	1 600	0	40	80	955
5	800	1 600	3 200	20	40	40	3 200
7	800	1 600	3 200	0	20	40	4 416
Morfina	250	500	1 000	40	60	80	354,8

Indicii terapeutici calculați pentru compușii nr. 2, 5 și 7 au fost superiori morfinei (tabelul V). 1,3-bis(N-benzosulfonimido)-2-propanona a prezentat indicele de securitate cel mai bun, net superior morfinei de 3,7 ori.

Tabelul V

Indicele terapeutic

Nr. comp.	DE_{50} (*mg/kilocorp*)	DL_{50} (*mg/kilocorp*)	$IT = DL_{50}/DE_{50}$
2	8,414	1 950	231,75
3	9,772	955	97,71
5	4,365	3 200	733,10
7	9,441	4 416	467,74
Morfina	1,820	354,8	194,94

CONCLUZII

Derivații de 1,3-diclor-2-propanol și 1,3-diclor-2-propanonă prezintă experimentul acțiune analgezică. Toxicitatea acută fiind foarte redusă, indicii terapeutici sînt foarte buni.

Compusul nr. 5, 1,3-bis (N-benzosulfonimido)-2-propanona, este cel mai activ din serie, avînd $^1/_2$ din potența analgezică a morfinei. Indicele de securitate al acestui compus este de 3,7 ori mai mare, comparativ cu morfina.

BIBLIOGRAFIE

1. DOBRESCU D., IOVU M., CRISTEA E., BALOCH A. — Brevet R.S.R., nr. 66 758 din 2. XII. 1976.
2. DOBRESCU D., IOVU M., CRISTEA A., OMAIMA ABD EL HAFEZ — Brevet R.S.R., nr. 89 040, 1982.
3. IOVU M., IQBAL MUZAFFAR — *Rev. Chim.*, 1983, 7, 596.
4. KOTCHETKOV N. K., VOROTNIKOVA L. A. — *Zh. Obschei.*, 1959, 29, 532.
5. LUDWIG B. J. — *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, 76, 2 854.
6. MAMEDOV S., ARABOV A. K., KHYDYROV D. N. — *Zh. Organ. Khim.*, 1965, *1*, 6, 1 037.
7. TURNER A. R. — Screening Methods in Pharmacology. Academic Press, New York, 1965.
8. DOBRESCU D. și colab. — Lucrări practice de farmacodinamice. Litografia I.M.F. București, 1978.

Articol intrat în redacție la 17. II. 1986.

Indicele de clasificare : 547.213:615.783.172—092.259

SUMMARY

Aurelia Cristea, Elena Bădău, Aurelia Zafindravelo — 1,3-DISUBSTITUTED COMPOUNDS OF 2-PROPRANOLOL, AND OF PROPANONE WITH ANALGETIC EFECTS

Nine compounds have been synthetized, 1,3-disubstitutes of 2-propanolol and propanone, that have been characterized both physically and by spectral methods. Studies have been performed on the analgetic effects, and on the acute toxicity of the synthetized compounds, and the efficient doses have been established (DE_{50}), the median lethal doses (DL_{50}), and the therapeutic indexes. Of the tested compounds 1,3-bis (N-benzosulphoneimido)-2-propanone is the most active of the series, with 50% the analgetic effect of morphine, while the security index is 3.7 times greater.

REFERAT

INDUCȚIA SINTEZEI DE CĂTRE FACTORUL ELIBERATOR DE CORTICOTROPINĂ (CRF) ÎN LEUCOCITE A ACTH IMUNOREACTIV ȘI A ENDORFINELOR, **Em. Smith, Ac. Morill,** *Nature*, 321, 26 June 1986, p. 881

Nu numai celulele fituitare, cum se știa pînă acum, ci și leucocitele periferice umane infectate viral sau tratate cu endotoxin, în prezența CRF, sînt capabile să sintetizeze ACTH imunoreactiv (ACTH ir) și endorfine.

Tratarea leucocitelor periferice (10^9 leucocite) cu CRF timp de 48 de ore a condus la sinteza a 650 ug de ACTH biologic activ. Prezența dexametazonei reduce cantitatea de $ACTH_{ir}$ sintetizată în culturi de leucocite. De asemenea leucocite tratate cu CRF sintetizează o endrofină radiomarcată, cu masă relativă asemănătoare — endorfine (aprox. 3 500), sinteza care a fost inhibată de dexametazonă.

Diferența principală între producerea de ACTH de către celulele pituitare și leucocite pare a fi de natură cinetică : în timp ce primele răspund în timp foarte scurt (minute), ultimele răspund numai în interval de ore.

Aceste date sugerează că gena proopiomelanocortinei poate fi activată în leucocite, așa cum se întîmplă la celulele pituitare, și că mecanismele de control implicate pot fi similare.

Rezultatele studiului de față au implicații majore atît practice cît și teoretice.

Practic, devine posibil să conecteze deficiențe hipofizare de ACTH prin administrarea de CRF exogen, CRF care poate introduce $ACTH_{ir}$ din leucocite.

Consecințele teoretice sînt dintre cele mai interesante.

Identificarea unor hormoni și receptori comuni sistemelor imune și neuroendocrine poate fi un prim pas spre stabilirea unei punți de legătură prin care cele 2 sisteme comunică, alcătuind un circuit reglator ce leagă hipotalamusul și sistemul imun.

În felul acesta, sistemul imun ar putea avea o funcție senzorială, trimițînd semnale către hipofiză ca răspuns la prezența stimulilor somatici cum ar fi viruși, bacterii, tumori.

Invers, sistemul nervos central poate trimite semnale sistemului imun prin intermediul hormonilor hipotalamici, cum ar fi CRF. Aceste descoperiri pot așa dar furniza baza pentru ipoteza după care stări psihice pot fi reflectate în stări ale sistemului imun.

Gabriela Văduva

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Оригинальные работы. Экспериментальные исследования

П. Петку, Е. Бордаш, З. Урай, Екатерина Андронеску, А. Зейк — *Морфологические и цитохимические изменения костного мозга и крови, вызываемые химиотерапией у белых крыс, леченных препаратом „ТОНОБИЛ"* 129

С. Е. Леукуца, Д. Поруциу, М. Полиниченку — *Микросферы и микрокапсулы содержащие адриамицин; их изготовление и кинетика выделения* ин витро *активного вещества* 133

К. Полиниченку, С. Е. Леукуца, Д. Здренгя, Агота Ковач, Н. Стэнчою — *Влияние формулировки на кинетику выделения и на возможность биологического использования хлористого калия из таблеток с гидрофильной матрицей* 139

Виорика Начя, Виктория Алдя — *Восстанавливающий характер действия хлонидина на неорганические окислители* 149

Елива Гафицану, Юлияна Попович, Стерияна Браха, В. Дорняну, Юлия Василиу, Юлияна Димофте, Виорика Трандафир — *Гели на основе коллагена, содержащие растительные препараты и используемые при лечении метастазов и случаев мастодинии* 155

Виорика Филипаш, С. Е. Леукуца, Мария Алдя, Луминица Вида Симити — *Кинетика выделения* ин витро *и возможность биологического использования нитроглицерина из липофильной маги, из водорастворимой полимерной плёнки и из лечебной транскутанной системы* 161

Джорджета Лука, Драга Тодоров — Гелебрин *кардиотонический препарат с быстрым и продолжительным действием* 171

В. К. Нонински, Е. Б. Собовале, Л. А. Дряновска-Нонинска — *Полярографическое анодное определение этамцлата (дицинон) с помощью самоочищающегося вращающегося электрода (CPE)* 175

Аурелия Кристя, Елена Бэдэу, Аурелия Зафиндравело — *1,3-двухзамещенные соединения 1-пропанолола и пропанона, обладающих анальгетическим действием* 181

Рефераты

SUMAR

Pag.

Lucrări originale. Cercetări experimentale

P. Petcu, E. Bordaș, Z. Uray, Ecaterina Andronescu, A. Zeic — *Modificări medulo-sanguine, morfo-citochimice induse prin chimioterapie la șobolani tratați cu „Tonobil"* 129

S. E. Leucuța, D. Poruțiu, M. Polinicencu — *Microsfere și microcapsule cu adriamicină: preparare și cinetica cedării* in vitro 133

C. Polinicencu, S. E. Leucuța, D. Zdrenghea, Agota Kovats, N. Stăncioiu — *Influența formulării asupra cineticii eliberării și a biodisponibilității clorurii de potasiu din comprimate cu matriță hidrofilă* . 139

Veronica Nacea, Victoria Aldea — *Caracterul reducător al clonidinei față de oxidanți anorganici* 149

Eliza Gafițanu, Iuliana Popovici, Steriana Braha, V. Dorneanu, Iulia Vasiliu, Iuliana Dimfote, Viorica Trandafir — *Geluri pe bază de colagen, cu produse din plante, utilizate în tratamentul mastozelor și mastodiniilor* 155

Viorica Filipaș, S. E. Leucuța, Maria Aldea, Luminița Vida Simiti — *Cinetica cedării* in vitro *și biodisponibilitatea nitroglicerinei dintr-un unguent lipofil, un film polimeric hidrosolubil și un sistem terapeutic transcutanat* 161

Georgeta Luca, Draga Todorov — *Helebrina cardiotonic cu acțiune rapidă și de lungă durată* 171

V. C. Noninski, E. B. Sobowale, L. A. Dryanovska-Noninska — *Anodic polarographic determination of Etamcylate (Dicynone) with the help of the self-cleaning rotating electrode (SRE)* 175

Aurelia Cristea, Elena Bădău, Aurelia Zafindravelo — *Compuși 1,3-disubstituiți ai 2-propanololului și propanonei cu acțiune analgezică* . . . 181

Referate

1997 Dec. 17

„Cititorii din străinătate se pot abona prin ROMPRESFILATELIA sectorul Export-Import presă P. O. Box 12-201 Telex 10376, București, Calea Griviței nr. 64—66".

I. P. Informația c. 1255

Lei 10

E 2159 -04

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

1983 JAN 25
Referálva

COLEGIUL DE REDACȚIE :

Redactor responsabil :	prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct :	prof. V. STĂNESCU
Secretari responsabili de redacție :	conf. VASILICA ANTONESCU
	prof. ȘT. TĂMĂȘDAN

MEMBRI :

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEȘAN (Cluj-Napoca), prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iași), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iași), conf. Z. FIRȘIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, prof. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, prof. D. OȚELEANU, farm. V. POPOVICI (Timișoara), farm. NICULINA POPA, conf. E. PUȘCAȘU, conf. N. ȚUCHEL, farm. R. VASILIEV

4

OCTOMBRIE — DECEMBRIE 1987

CONTENTS

Page

D. Oţeleanu, Gh. Zuchi, Maria Agnes Dimitriu — Synthesis of certain azomethines: para-nitrobenzylidene-2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-thiadiazoles 193

G. Racz, Alexandrina Oşan — The influence of chloramphenicol on the *in vitro* pepsine activity 201

Iuliana Popovici, Eliza Gafiţeanu, Iulia Vasiliu, Florica Dima, Maria Vasilescu — Studies on dermal penetration of somedermal preparations containing erythromicine lactobionate employed in the treatment of pyodermitis. Note III 209

Iuliana Popovici, M. Pavelescu, Maria Stan, Maria Miştode, V. Dorneanu, I. Mîndreci, Eliza Gafiţeanu, M. Dumitrache — The kinetics of *in vitro* liberation and bioavailability of magnesium ions (Mg^{2+}) from TRIMAG tablets 219

Doina Ghiran, S. E. Leucuţa, I. D. Postescu — Pharmacokinetic and preformulation studies on bioreversible precurssors of metronidazole . . . 225

V. Nacea, L. Dinicuţ — The reducing character of hydroxizine against inorganic oxidants 235

Eliza Gafiţeanu, Ioana Matei, Iuliana Popovici, Doina Lazăr, M. I. Lazăr, Silvia Drăghici — Characterization of extractive fractions from *Calendulae* Flos employed in dermatological preparations 241

Viorica Hodişan, Lucia Grecu — Comparative studies on flavones from *Primula officinalis* (L) Hill, and *P. Acaulis* (L) Grufb. *(Primulaceae family)* 249

Reports

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

VOLUMUL XXXV OCTOMBRIE 4 DECEMBRIE 1987

ORSZÁGOS MUSZAKI INFORMÁCIÓS KÖZPONTÉS KÖNYVTÁR 1883

Sinteza unor azometine : para-nitrobenziliden-2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazoli

D. Oțeleanu, Gh. Zuchi, Maria-Agnes Dimitriu

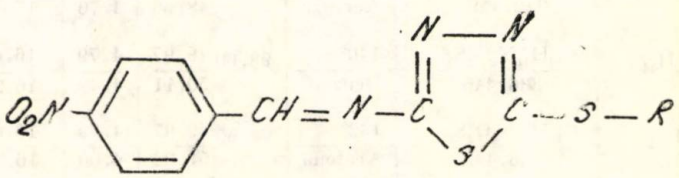
Disciplina de industria medicamentelor, Facultatea de Stomatologie și Farmacie, I.M.F. București

REZUMAT *Prin reacție de condensare dintre 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli și paranitrobenzaldehidă, raport molar 1/1, s-au obținut 11 compuși, necitați în literatura de specialitate din seria para-nitrobenziliden-2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli.*

Structura acestor produși a fost verificată prin analiza cantitativă a elementelor și confirmată de spectrografia în IR și UV.

Azoderivați
Sinteză

În continuarea studiului nostru (1—3), pentru stabilirea unor relații între structura chimică și activitatea biologică a unei noi serii de produși, prezentăm sinteza unor azometine, cu următoarea formulă generală :



rezultate din condensarea p-nitro-benzaldehidei cu 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli.

Unele date din literatura de specialitate arată că 2-nitro-benzaldehida inhibă creșterea bacilului tuberculozei (4), iar 4-nitro-benzaldehida se găsește în structura unor compuși carcinostatici (5).

Pe de altă parte, azometina tiazolului, care conține grupa nitro :

2-(5-nitro-2-furfurilidenamino)-tiazol este un compus bactericid mai puternic, mai puțin toxic și mai solubil decît alți compuși similari (6), iar unele azometine ale 1, 3, 4-tiadiazolului obținute prin reacția 2-amino-1, 3, 4-tiadiazolului cu benzaldehida simplă sau substituită (cu diverse grupări printre care și p-nitro-), posedă proprietăți fungicide potențiale (7).

Am avut în vedere și atenția permanentă acordată acestui heterociclu, diferiți autori sintetizînd în ultimul timp o serie de substanțe care conțin nucleul 1, 3, 4-tiadiazolic, cu proprietăți biologice potențiale, hipoglicemiante (8—11), antiinflamatoare (12), antibacteriană (13—15) etc.

Prezentăm în tabelul I noii compuși sintetizați, care nu au fost găsiți citați în literatura de specialitate.

Tabelul I

Compuși sintetizați

Nr. crt.	*R*	Formula moleculară / Greutatea moleculară	P · t° · °C / Solvent	Rdt (%)	C% c/g	H% c/g	N% c/g	S% c/g
1	—H	$C_9H_6N_4O_2S_2$ / 266,311	213—4° / Dioxan	96,20	40,75 / 40,20	2,28 / 2,10	21,12 / 21,00	24,17 / 24,02
2	$-CH_3$	$C_{10}H_8N_4O_2S_2$ / 280, 338	219° / Acetonă	96,14	42,83 / 42,05	2,87 / 2,15	19,98 / 19,35	22,87 / 22,25
3	$-C_2H_5$	$C_{11}H_{10}N_4O_2S_2$ / 294,365	190° / Acetonă	97,44	44,87 / 45,60	3,42 / 3,70	19,03 / 18,80	21,79 / 21,10
4	$-n.C_3H_7$	$C_{12}H_{12}N_4O_2S_2$ / 308,392	159° / Acetonă	97,43	46,73 / 47,72	3,92 / 4,02	18,17 / 18,00	20,80 / 20,40
5	$-i.C_3H_7$	$C_{12}H_{12}N_4O_2S_2$ / 308,392	126—8° / Acetonă	94,20	46,73 / 47,08	3,92 / 4,10	18,17 / 18,30	20,80 / 20,60
6	$-n.C_4H_9$	$C_{13}H_{14}N_4O_2S_2$ / 322,419	164° / Acetonă	98,88	48,44 / 49,41	4,37 / 5,10	17,38 / 17,00	19,87 / 19,00
7	$-i.C_4H_9$	$C_{13}H_{14}N_4O_2S_2$ / 322,419	169° / Acetonă	97,34	48,44 / 49,00	4,37 / 4,80	17,38 / 17,00	19,87 / 19,20
8	$-terț-C_4H_9$	$C_{13}H_{14}N_4O_2S_2$ / 322,419	215—7° / Acetonă	98,88	48,44 / 48,90	4,37 / 4,70	17,38 / 17,10	19,87 / 19,15
9	$-n.C_5H_{11}$	$C_{14}H_{16}N_4O_2S_2$ / 336,446	140° / Benzen	93,60	49,97 / 50,11	4,79 / 4,42	16,65 / 16,20	19,06 / 18,80
10	$-i.C_5H_{11}$	$C_{14}H_{11}N_4O_2S_2$ / 336,446	143° / Acetonă	96,69	49,97 / 51,02	4,79 / 4,00	16,65 / 16,20	19,06 / 18,70
11	$-CH_2-C_6H_5$	$C_{16}H_{12}N_4O_2S_2$ / 356,436	157—8° / Acetonă	97,46	53,93 / 53,20	3,39 / 4,90	15,97 / 15,10	17,97 / 17,35

Produșii noi obținuți au fost analizați, rezultatele determinărilor încadrîndu-se în limitele erorilor admise.

Confirmarea structurii dedusă prin sinteză s-a efectuat prin analiza spectrală în IR și UV, făcîndu-se atribuirile principalelor benzi.

Spectrogramele au fost înregistrate la un spectrofotometru IR 75 (Karl Zeiss, Jena), utilizînd tehnica pastilării în bromură de potasiu. Vom prezenta microfotografiile spectrelor în IR, în domeniul 4 000—400 cm^{-1}, pentru stabilirea benzilor de absorbție mai semnificative ale unor compuși sintetizați de noi (fig. 1, 2, 3).

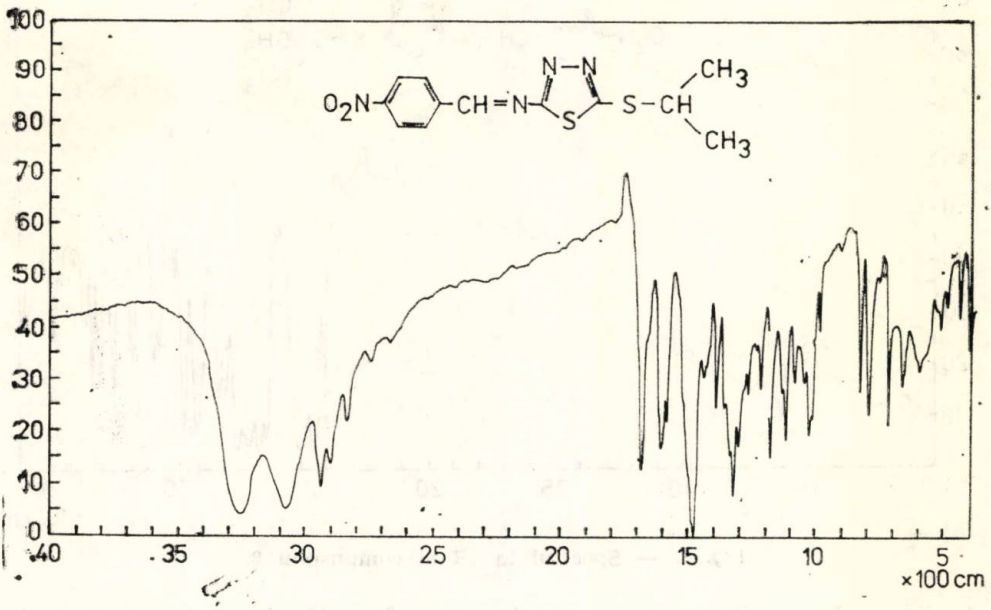


Fig. 1. — Spectrul în IR al compusului 5.

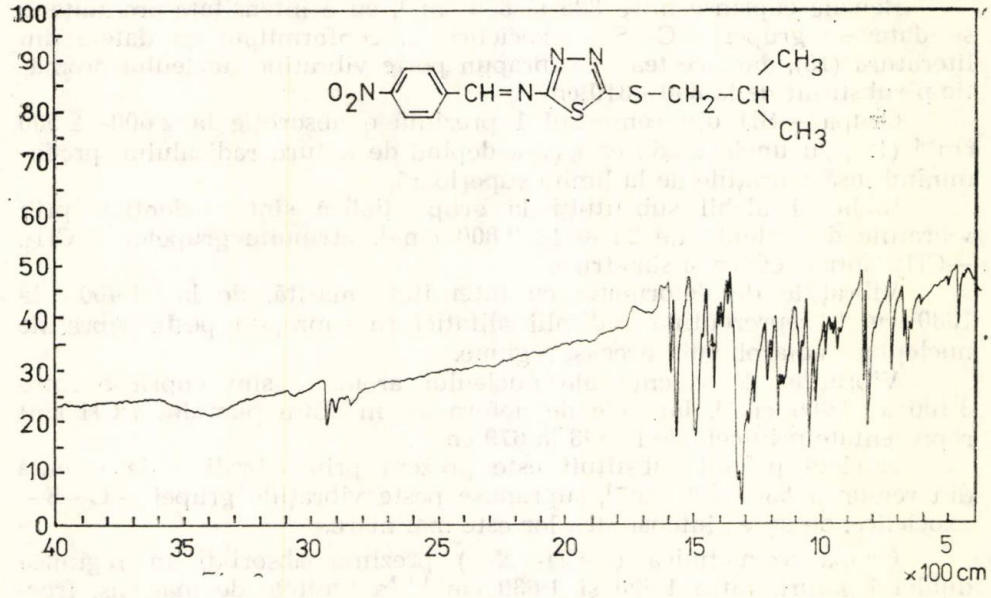


Fig. 2. — Spectrul în IR al compusului 7.

În spectrogramele efectuate s-au identificat benzile de absorbție ale nucleului 1, 3, 4-tiadiazolic substituit, care sînt cuprinse între 1 550 și 1 500 cm^{-1}, 1 430 și 1 370 cm^{-1} și 1 280—1 200 cm^{-1}. Această structură

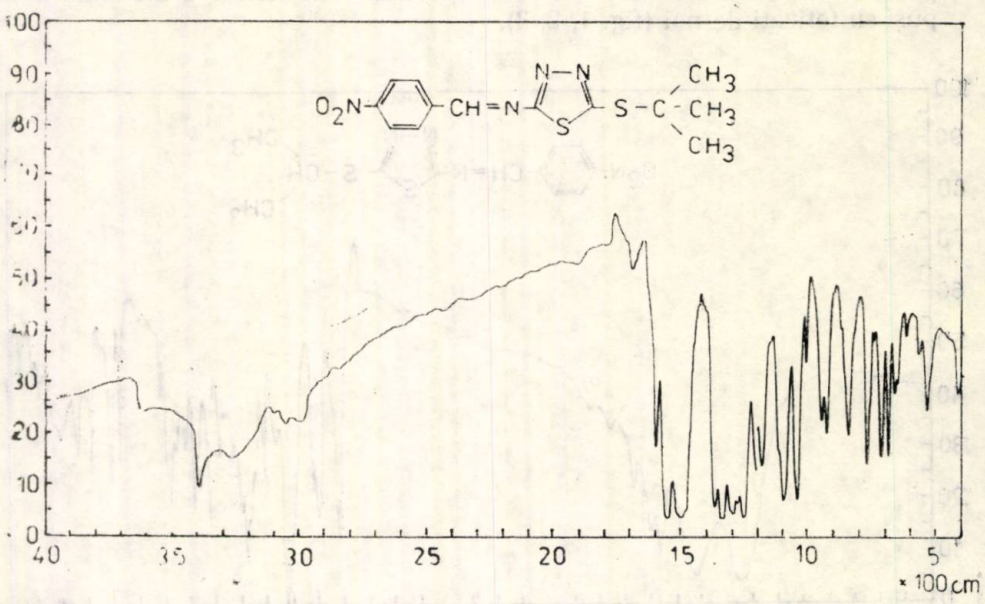


Fig. 3. — Spectrul în IR al compusului 8.

tiadiazolică a noilor compuși poate fi confirmată și de prezența unei benzi caracteristice vibrației de deformație situată între 553 și 500 cm^{-1} (16, 17).

Benzile cuprinse între 825 și 800 cm^{-1}, cu o intensitate pronunțată, se datoresc grupei —C—S— exociclice în conformitate cu datele din literatură (18), dar acestea se suprapun peste vibrațiile nucleului aromatic p-substituit de la 850—810 cm^{-1}.

Grupa —SH din compusul 1 prezintă o absorbție la 2 600—2 500 cm^{-1} (19), cu unele modificări care depind de natura radicalului, predominînd însă vibrațiile de la limita superioară.

Radicalii alchil substituiți la grupa tiolică sînt evidențiați prin vibrațiile de valență de 2 980 la 2 800 cm^{-1}, atribuite grupelor —CH_3, —CH_2, antisimetrice și simetrice.

Vibrațiile de deformație cu intensitate mărită, de la 1 460 la 1380 cm^{-1}, reprezentînd radicalii alifatici se suprapun peste vibrațiile nucleului tiadiazolic din aceeași regiune.

Vibrațiile de valență ale nucleului aromatic sînt cuprinse între 3 100 și 3 000 cm^{-1}, iar cele de deformare în afara planului γ:CH sînt reprezentate prin cele de la 693 la 679 cm^{-1}.

Nucleul p-fenil substituit este prezent prin vibrațiile de valență din regiunea 830—800 cm^{-1}, suprapuse peste vibrațiile grupei —C—S— exociclice, de aceea intensitatea lor este mai mare.

Grupa azometinică (—CH=N—) prezintă absorbții în regiunea dublei legături, între 1 690 și 1 630 cm^{-1}. În limitele de mai sus, frecvența ν—C=N— din azometine depinde de natura radicalului.

Prezența grupei $-NO_2$ în poziția para se poate caracteriza prin vibrațiile de valență antisimetrice cuprinse între 1 570 și 1 490 cm^{-1} și cele simetrice de la 1 370 la 1 300 cm^{-1} (19). În acest domeniu pot exista suprapuneri cu vibrațiile nucleului 1, 3, 4-tiadiazolic.

Pentru studiul spectral în UV și vizibil s-au preparat soluții cu $C=10^{-3}M$ prin dizolvare în etanol absolut, la balon cotat de 25 ml a substanțelor de cercetat, din care s-au obținut diluțiile necesare spectrofotometrări în aceste domenii ($5.10^{-5}M$, 2.10^{-4}, $10^{-4}M$), care s-a efectuat

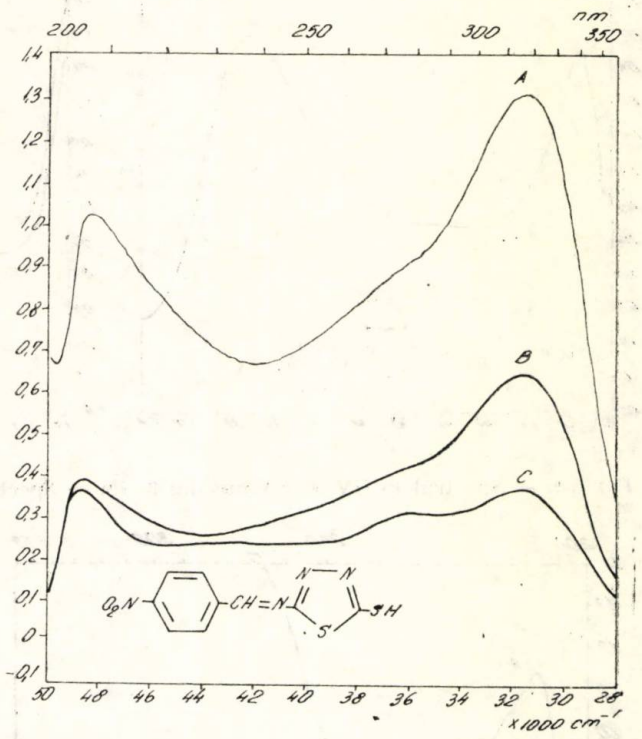


Fig. 4. — Spectrul în UV al compusului 1.

la un spectrofotometru automat Specord UV—VIS, în domeniul 54 000—13 000 cm^{-1}, în cuve de 1 cm, folosindu-se ca martor atanolul absolut.

Compusul 1, cu grupa —SH nesubstituită, prezintă două maxime ale densității optice în UV ($C=2.10^{-4}M$) la 205,3 nm (D.O. sp. 38345), 315 nm (D.O. sp. 50 000) și un umăr cuprins între 270 și 277.7 nm (D.O. sp. 33834) (fig. 4. pct. A). În soluții mai diluate ($C=10^{-4}M$ și $C=5.10^{-5}M$) se păstrează aceleași maxime ale densității optice, observîndu-se însă apariția efectelor hipocrome respective, pentru fiecare concentrație (fig. 4. pct. B și C). În vizibil, la aceste diluții compusul nu a prezentat absorbții semnificative.

Compusul 8 care conține un radical terțbutil grefat la grupa tiolică, prin substituirea atomului de hidrogen, în soluție cu $C=5.10^{-5}M$ prezintă două maxime la 205,3 nm (D.O. sp. 57763) și 302 nm (D.O. sp. 60869), (fig. 5 a, pct. A). În domeniul vizibil, la o $C=2.10^{-4}M$ și în mediu alcalin, la pH=8—8,5 apare un efect batocrom, lungimea de undă avînd un maxim la 463 nm (D.O. sp. 13953), în comparație cu soluția alcoolică

($C=10^{-4}M$) care a prezentat un maxim la 429 nm (D.O. sp. 26086) (fig. 5b, pct. A și B).

La derivații care au atomul de hidrogen din grupa —SH, substituit cu alți radicali, apare un maxim al densității optice la 209 nm (D.O. sp.

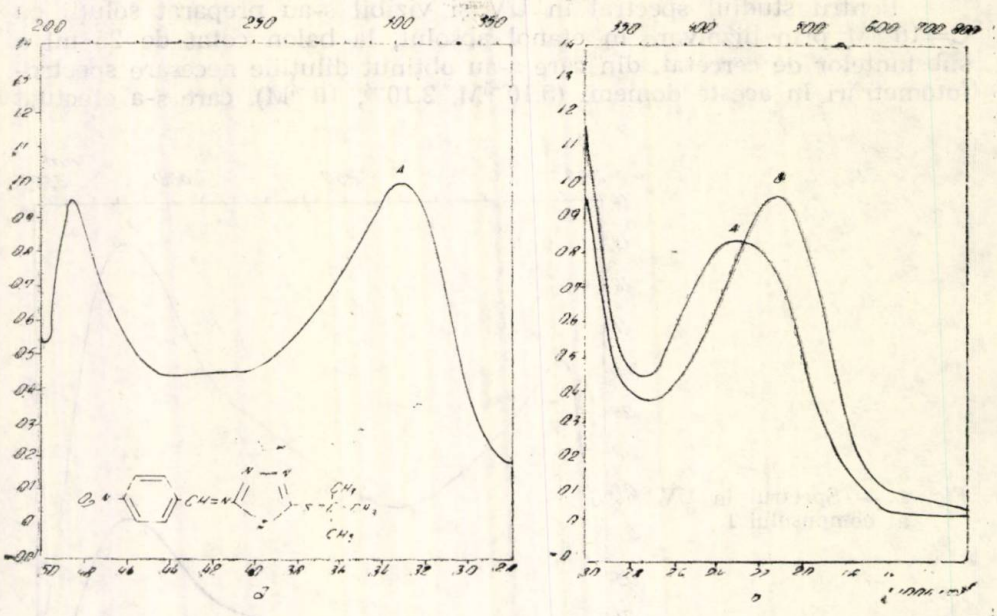


Fig. 5 a. — Spectrul în UV al compusului 8. *5b.* — Spectrul în vizibil al compusului 8,

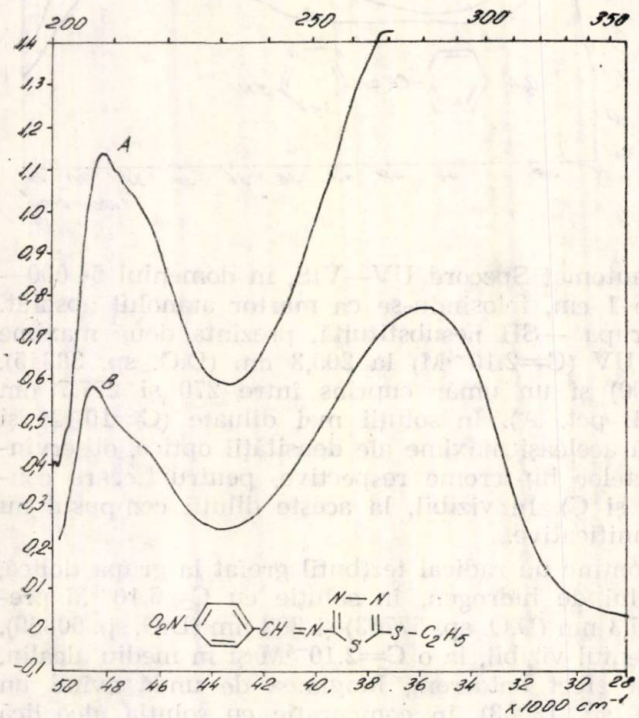


Fig. 6. — Spectrul în UV al compusului 3.

46311) și un umăr la 217 nm (D.O. sp. 31292), la o C=$^{-4}$M. O soluție cu C=5.10^{-5}M prezentă în plus două maxime la 267,8 nm (D.O. sp. 39455) și 279 nm (D.O. sp. 51700) (fig. 6. pct. A și B). În vizibil, aceste soluții nu prezintă absorbții semnificative.

Efectele batocrome se datoresc pe de o parte existenței tautomeriei tiol-tionice de la compusul 1, cu grupa tiolică nesubstituită ca și efectului +I$_s$, de mărire a densității electronice la S-exociclic, la compusul care are un radical terțbutil. La acest compus, efectul batocrom se datorește și mediului alcalin care determină o nouă repartiție electronică în molecula acestuia, ceea ce permite apariția unor structuri chinoidice.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Sinteza 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazolilor a fost făcută după metodele indicate în lucrările anterioare (20), iar p-nitrobenzaldehida folosită corespunde datelor din literatură (p. t. 106—107°) *para-Nitrobenziliden-2-amino-5-mercapto-1, 3, 4-tiadiazolul.* În 1,35 g (0,01 moli) 2-amino-5-mercapto-1, 3, 4-tiadiazol dizolvat în 50 ml etanol absolut, se adaugă sub agitare la reflux, picătură cu picătură 1,55 (0,01 moli) p-nitrobenzaldehidă dizolvată în 50 ml etanol absolut.

Soluția se încălzește la reflux două ore în aceleași condiții, după care se lasă în repaus 24 ore la temperatura de 5—10°.

Precipită un produs galben, care după filtrare și uscare se recristalizează din dioxan la reflux.

Rezultă 2,60 g (Rdt. 96,20%) pulbere galbenă cu p.t. 213—4°, insolubilă în apă, solubilă la fierbere în dioxon, CMF, ciclohexanonă. $C_9H_6N_4O_2S_2$; Greutatea moleculară 266,311.
C calculat: 40,75% ; H calc: 2,28%; N calc : 21,12%; S calc: 21,17%. 21,17%.
găsit : 40,20% ; găsit : 2,10% ; găsit 21,00%; găsit: 24,02%.

Ceilalți compuși au fost sintetizați urmînd aceeași metodă, cu schimbarea numai a intermediarilor 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazolului cu randamente cuprinse între 96—98%. Produșii au fost recristalizați din acetonă și benzen.

CONCLUZII

Au fost sintetizați 11 compuși necitați în literatura de specialitate, din seria para-nitrobenziliden-2-amino-5-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli, prin reacția de condensare dintre 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli și para-nitro-benzaldehidă.

Structura noilor compuși a fost verificată prin analiza cantitativă a elementelor și confirmată de spectrografia în IR și UV, care ne-a evidențiat prezența vibrațiilor de valență și de deformare a principalelor grupe din moleculă.

BIBLIOGRAFIE

1. OȚELEANU D., ZUCHI GH., DIMITRIU MARIA-AGNES — Farmacia (Buc.), 1984, 32, 3, 137.
2. OȚELEANU D., ZUCHI GH., DIMITRIU MARIA-AGNES — Farmacia (Buc.), 1985, 33, 4, 193.

3. OȚELEANU D., ZUCHI GH., DIMITRIU MARIA-AGNES — Farmacia (Buc.), 1986, 34, 4, 193.
4. * * * — Brevet Japan Kokai Tokyo Koho 8069.510/26.V.1980; C. A. 1981, 94, 7734s.
5. JARRIN BUU-HOI — Ann. Inst. Pasteur, 1946, 72, 580.
6. KLOSA J. — Brevet german 1183086/XII.1964; C. A. 1965, 62, 5281a.
7. SINGH N. B., SINGH H., SINGH S. — J. indian chem. soc. 1975, 52, 12, 1000; C.A., 1976, 85, 3, 21308 b.
8. OȚELEANU D., DIMITRIU MARIA-AGNES — Farmacia (Buc.), 1975, 32 1, 25.
9. SHAME EL-DINE SHA, NAZZA A.A.B. — J. Drug. Res., 1974, 6 (3), 202; C. A. 1975, 83, 131514 g.
10. OUJ A. A., ABOU EL KERDARY M. — J. Pharm. Sci., 1980, 21. 3—4, 189.
11. VORONINA P. A. — Fiziol. Akt. Veshch., 1982, 14, 66; C. A. 1983, 99, 33135 u.
12. * * * — Arch. Pharm. (Weinheim Ger), 1983, 316,6, 493; C. A. 1983, 99, 88124 w
13. MISSA HEMANT K. — Arch. Pharm. (Weinheim Ger), 1983, 316, 6, 487, C. A. 1983, 99, 88123 v.
14. NAIK H., NAIK S. K. — J. indian chem. soc., 1983, 60, 7, 674; C. A. 1984, 100, 139011 f.
15. SHAMSEL-DINE SH. A., JAWAD F.H., MAHMOUD N. F. — Die Pharmazie, 1984, 2, 101.
16. KATRITZKY A. R. — Physical methodes in heterocyclic chemistry, vol. II, p. 232, Academic Press, New York, 1963.
17. SBRANA G., GINMMESCHI M. — Spectrochim. Acta, 1966, 22, 517.
18. NAKANISHI KOJI — Infrared absorbtion spectroscopy practical, p. 216, Tokyo, 1964.
19. AVRAM M., MATEESCU GH. D. — Spectroscopia în infraroșu. Aplicații în chimia organică, Ed. Tehnică, București, 1966.
20. OȚELEANU D. — Farmacia (Buc.), 1972, 20, 9, 525.

Articol intrat în redacție la 9.III.1987

Indicele de clasificare: 615.778.296

SUMMARY

D. Oțeleanu, Gh. Zuchi, Maria-Agnes Dimitriu — SYNTHESIS OF CERTAIN AZOMETHINES: PARA-NITROBENZYLIDENE-2-AMINO-5-R-MERCAPTO-1, 3, 4-THIADIAZOLES

A total of elevent compounds were obtained, not mentioned before in the specialized literature, from the series of para-nitrobenzylidene-2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-thiadiazoles by a condensation reaction between 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-thiadiazoles and paranitrobenzaldehide in a 1/1 molar ratio. The structure of these products was verified by quantitative analysis of the elements and confirmed by IR and UV spectrography.

РЕЗЮМЕ

Д. Оцеляну, Г. Зуки, Мария-Агнес Димитриу — СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ АЗОМЕТИНАХ: ПАРА-НИТРОБЕНЗИЛИДЕН-2-—АМИНО-5-Р-МЕРКАПТО-1,3,4-ТИАДИАЗОЛИ

Реакцией конденсанции между 2-амино-5-Р-меркапто-1,3,4-тиадиазоли и паранитробензалдегида, молярное отношение 1/1, получены 11 соединений, неназванные в литературе по специальности серии пара-нитробензилиден-2-амино-5-Р-меркапто 1,3,4-тиадиазоли.

Структура этих продуктов проверена количественным анализом елементах и подтвержденная спектрографически в ИК и УФ.

Influenţa cloramfenicolului asupra activităţii pepsinei in vitro

G. Racz, Alexandrina Oşan

Facultatea de Farmacie, I.M.F., Tîrgu Mureş

REZUMAT *S-a studiat influenţa cloramfenicolului şi a cloramfenicolului hemisuccinat asupra activităţii pepsinei* in vitro. *Atît cloramfenicolul cît şi esterul său succinic prezintă un efect antipeptic (în medie de aproximativ 24%) comparabil cu a subnitratului de bismut. Reprezentările Lineweaver-Burk şi Dixon ne indică un tip de inhibiţie necompetitiv. Constantele de inhibiţie (Ki) pentru cei 2 compuşi sînt foarte apropiate ca valoare, în corelaţie cu capacitatea inhibitoare practic egală.*

Antibiotice
Pepsinum
Studiu experimental

Boala ulceroasă rămîne în continuare una din problemele majore ale gastroenterologiei. Cercetările întreprinse în acest domeniu au urmărit atît elucidarea cauzelor şi mecanismelor de producere a diferitelor forme de ulcer cît şi îmbunătăţirea mijloacelor terapeutice. Ulcerul gastric şi duodenal se produc prin perturbarea raportului normal dintre factorii de protecţie şi factorii de agresiune ai mucoasei gastrice (1). Factorii de agresiune sînt reprezentaţi în special de secreţia acidă şi cea pepsinică, cărora li se opun factorii de apărare care includ capacitatea de neutralizare reprezentată prin mucus, bicarbonaţi (2), proteine şi rezistenţa mucoasei gastrice şi duodenale.

Numeroase cercetări experimentale au urmărit îmbogăţirea arsenalului terapeutic în tratamentul ulcerului gastroduodenal, fie influenţînd secreţia gastrică acidă (1), fie activitatea proteolitică a sucului gastric. Astfel s-a stabilit atît prin studii *in vitro* cît şi *in vivo* efectul inhibant asupra activităţii enzimatice a pepsinei al unor polizaharide sulfatate (3, 4), mucopolizaharide sulfatate (5), a sucralfatului (6, 7).

Recent au fost sintetizate noi poliizoprenoide ca N'-metilpiperazinil geranil acetamidă (MPGA) şi 3-N, N-dimetilaminopropil farnezil acetat (DMFA) care s-au dovedit *in vivo* a avea un efect inhibant asupra secreţiei de pepsină (8).

Pornind de la aceste considerente, cercetările noastre au urmărit influenţa mai multor compuşi cu structură fenil propanică, printre care şi cloramfenicolul, asupra activităţii enzimatice a pepsinei *in vitro*.

MATERIAL ȘI METODE

S-a determinat activitatea pepsinei singură și după incubare cu cloramfenicol, respectiv cloramfenicol hemisuccinat, după metoda Anson și Mirsky. Ca sursă de enzimă s-a folosit pepsina cristalizată (Merk) soluție 0,2% și suc gastric artificial (9) iar ca substrat proteic hemoglobina bovină liofilizată (Serva), soluție 2,3% în HCl 0,06 N la pH 1,85. Produșii de hidroliză solubili în acid tricloracetic s-au determinat spectrofotometric cu reactiv Folin-Ciocâlteu și s-au exprimat în tirozină (tyr). Activitatea enzimatică s-a calculat în funcție de cantitatea de tyr scindată hidrolitic din hemoglobină și s-a exprimat în Up^{Hb} /100 mg enzimă (10, 11).

În aceleași condiții experimentale s-a determinat activitatea pepsinei după incubare timp de 30 minute la 35,5°C cu cloramfenicol și cloramfenicol hemisuccinat în concentrație de 2,5 și 5,0 μmol/l.

Studiul cinetic efectuat a urmărit influența concentrației pepsinei, în limitele de concentrație de 0,2—1,0 mg/probă și a substratului proteic, în limitele de concentrație de 1,0—12,5 mg Hb/probă, asupra vitezei de reacție, exprimată în μmoli tyr/min, în absența, respectiv după incubare cu cloramfenicol. Determinarea Km s-a făcut după metoda Lineweaver-Burk.

Determinarea constantelor de inhibiție (K_i) s-a făcut după metoda Dixon (12, 13) studiindu-se variația vitezei de reacție în funcție de concentrația cloramfenicolului ca inhibitor, în limitele de concentrație de 5—15 μmoli/probă cloramfenicol și μmoli/probă cloramfenicol hemisuccinat, la diferite concentrații ale substratului (2—5 mg Hb/probă).

Pentru calculul statistic al rezultatelor experimentale s-a folosit testul „t" Student. S-au considerat semnificative diferențele la care pentru valoarea lui „t" calculată probabilitatea este de cel puțin $p \leq 0,05$.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele obținute la determinarea activității pepsinei și respectiv după incubare 30 de minute cu 2,5 și 5,0 mmoli cloramfenicol și cloramfenicol hemisuccinat sînt cuprinse în tabelul I.

Efectul inhibant al cloramfenicolului asupra activității pepsinei este apropiat de cel al subnitratului de bismut (1), pentru care noi am

Tabelul I

Cloramfenicol Cloramfenicol hh mmol/l	*2,5*	*AAP%*	*5,0*	*AAP%*	*Media AAP%*
Act. pepsinei $\times 10^{-3}$ Up^{Hb}/100 mg ± SD	10,05 (0,30)	—	10,05		
Act. pepsinei + cloramfenicol $\times 10^{-3}$ Up^{Hb}/100 mg ± SD	7,84 (0,22) $p < 0,001$	22,00	7,53 (0,20) $p < 0,001$	25,07	23,53
Act. pepsinei + cloramfenicol hh. $\times 10^{-3}$ Up^{Hb}/100 mg ± SD	7,77 (0,20) $p < 0,001$	22,68	7,51 (0,66) $p < 0,001$	25,27	23,97

stabilit la o concentrație de 10 mg/probă, o activitate antipeptică medie de 23,45%.

Studiul cinetic privind influența concentrației pepsinei asupra vitezei de reacție ne-a demonstrat că proporționalitatea între concentrația enzimei și viteza de reacție este respectată în intervalul ales de 0,2—1,0 mg pepsină/probă și pentru reacțiile inhibate. În determinările efectuate de noi concentrația pepsinei a fost de 0,5 și 0,8 mg/probă, deci se încadrează în limitele stabilite.

În scopul determinării tipului de inhibiție exercitat de cloramfenicol asupra activității enzimatice a pepsinei s-a studiat variația vitezei de reacție în funcție de concentrația substratului, la diferite concentrații de cloramfenicol, respectiv cloramfenicol hemisuccinat, obținîndu-se curbe de tip Michaelis (fig. 1, 2). Gradul de inhibiție crește proporțional cu concentrația. Reprezentarea grafică Lineweaver — Burk (fig. 3, 4) ne indică, pentru ambii compuși, un tip de inhibiție necompetitiv. Determinările au fost făcute la 2 concentrații ale inhibitorului, obținîndu-se valori egale ale K_m, în timp ce V_{max} scade cu 14% și 23% pentru reacția inhibată cu cloramfenicol, și cu 18% și 29% pentru reacția inhibată a cloramfenicol hemisuccinat. În tabelul II sînt cuprinse valorile K_m și V_{max} determinate pentru pepsină după incubare cu cloramfenicol

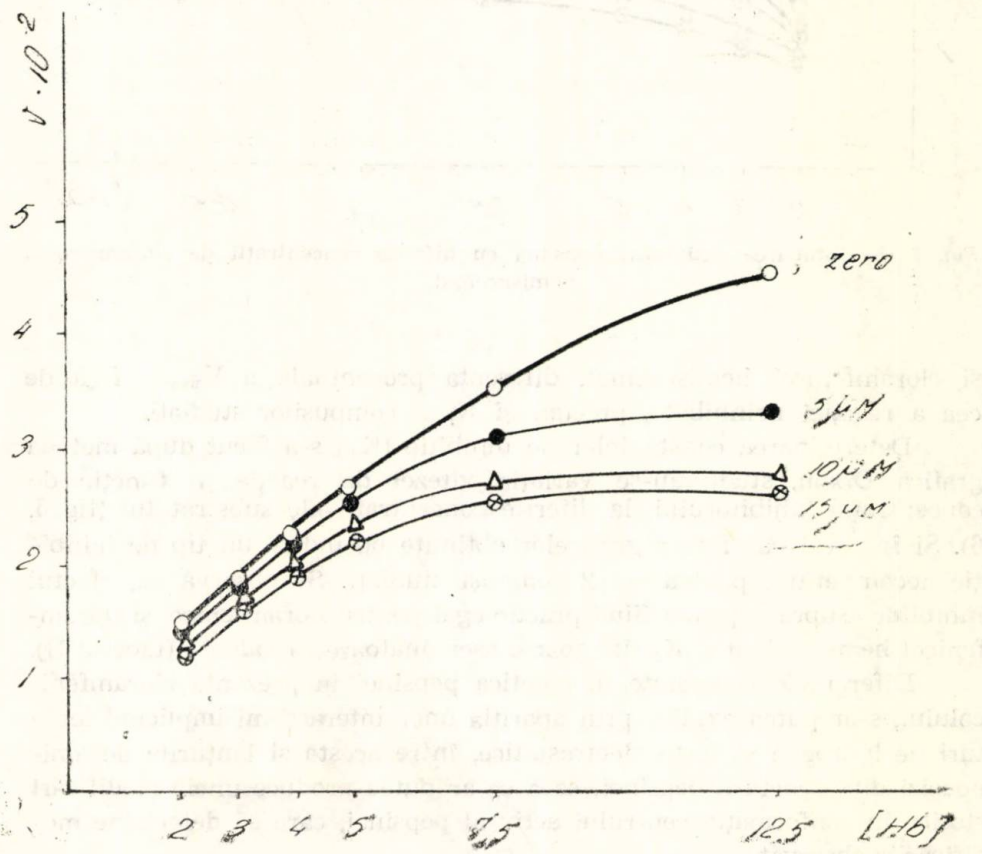


Fig. 1. — Inhibarea activității pepsinei cu diferite concentrații de cloramfenicol.

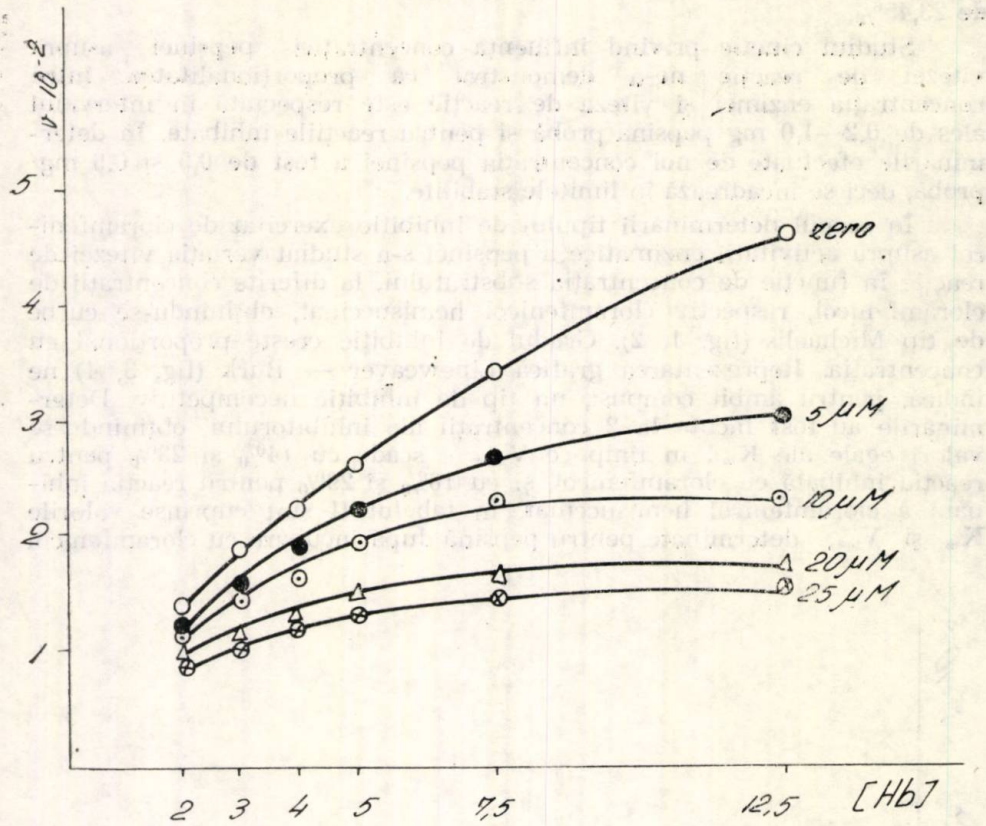


Fig. 2. — Inhibarea activității pepsinei cu diferite concentrații de cloramfenicol hemisuccinat.

și cloramfenicol hemisuccinat, diferența procentuală a V_{max} față de cea a reacției neinhibate, precum și K_i a compușilor studiați.

Determinarea constantelor de inhibiție (K_i) s-a făcut după metoda grafică Dixon, studiindu-se variația vitezei de reacție în funcție de concentrația inhibitorului, la diferite concentrații ale substratului (fig. 5, 6). Și în acest caz forma graficelor obținute ne indică un tip de inhibiție necompetitiv, pentru cei 2 compuși studiați. Se observă că, efectul inhibitor asupra pepsinei fiind practic egal pentru cloramfenicol și cloramfenicol hemisuccinat și K_i sînt foarte asemănătoare ca valoare (tabelul II).

Diferențele constatate în cinetica pepsinei în prezența cloramfenicolului, s-ar putea explica prin apariția unor interacțiuni implicînd legături de hidrogen și forțe electrostatice, între acesta și lanțurile de aminoacizi din structura pepsinei, ceea ce ar putea produce unele modificări sterice în conformația centrului activ al pepsinei, care să determine modificările observate.

Tabelul II

Compusul studiat	*Conc. mmol/l*	K_m *mol/l*	V_{max} 10^{-2}	*Dif. %*	K_i *mmol/l*	*Tip de inhibiție*
Cloramfenicol	5,00	$9,04 \cdot 10^{-5}$	5,88	−14,65	21,92	necompetitiv
	6,25	$9,04 \cdot 10^{-5}$	5,26	−23,66		
Cloramfenicol hemisuccinat	2,50	$8,10 \cdot 10^{-5}$	5,26	−18,44	20,80	necompetitiv
	5,00	$8,10 \cdot 10^{-5}$	4,54	−29,61		

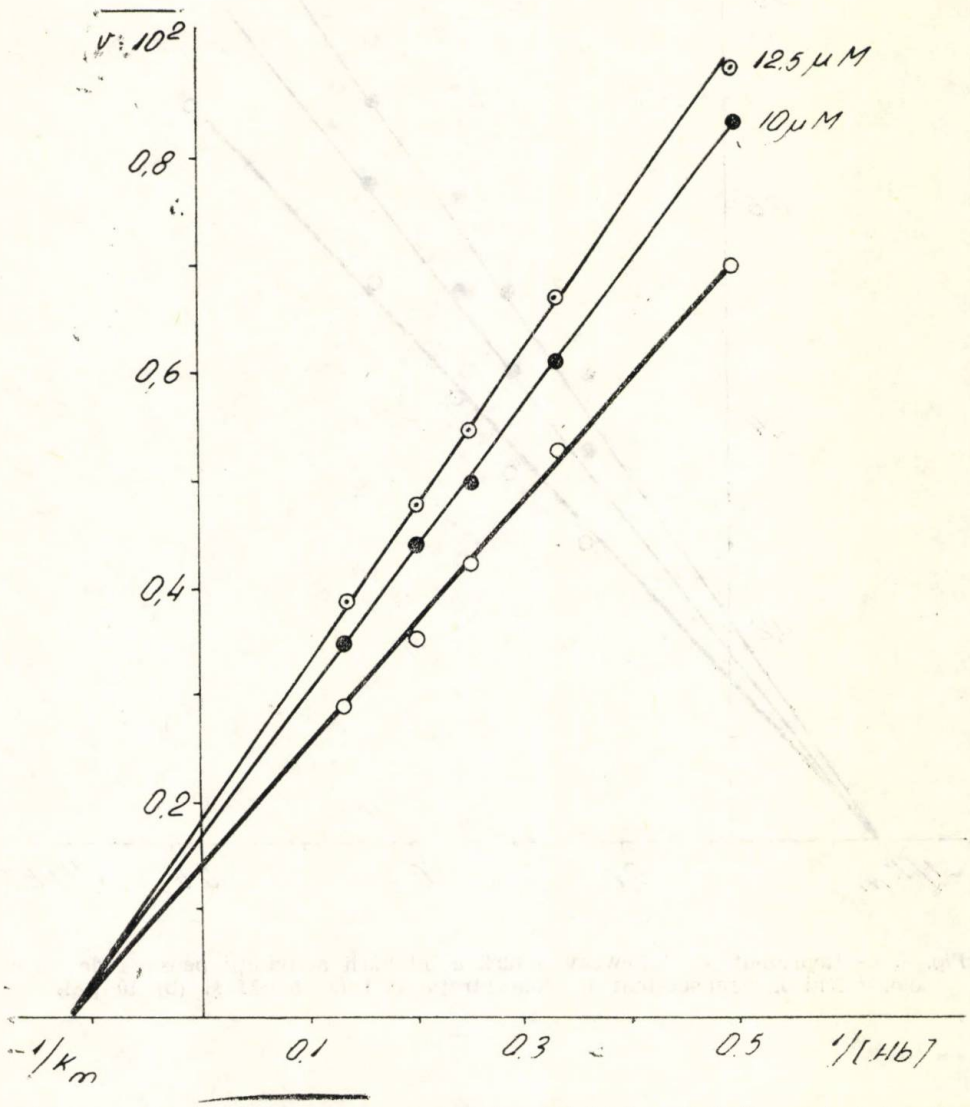


Fig. 3. — Reprezentarea Lineweaver-Burk a inhibării activității pepsinei de către cloramfenicol.

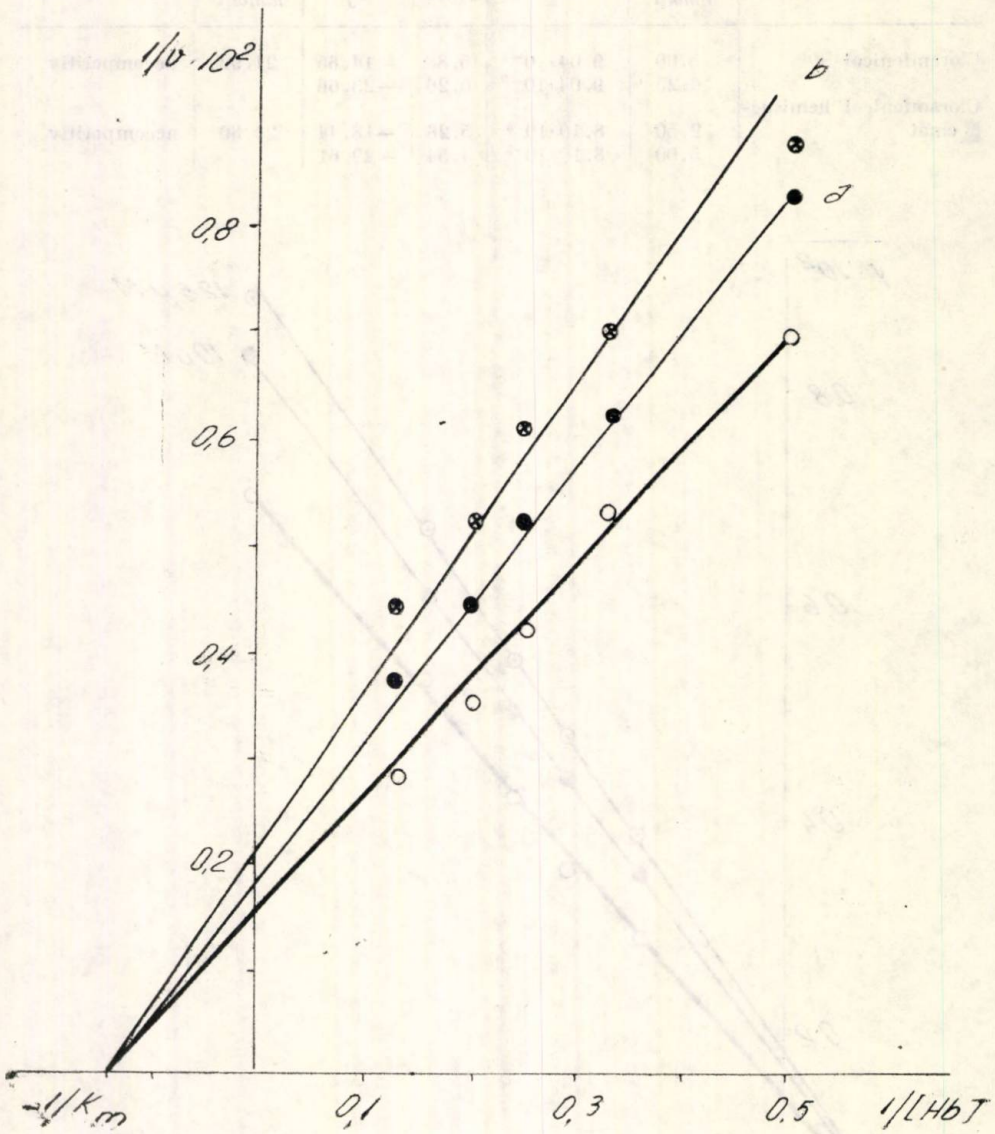


Fig. 4. — Reprezentarea Lineweaver-Burk a inhibării activității pepsinei de către cloramfenicol hemisuccinat în concentrație de: (a) 5 μM și (b) 10 μM.

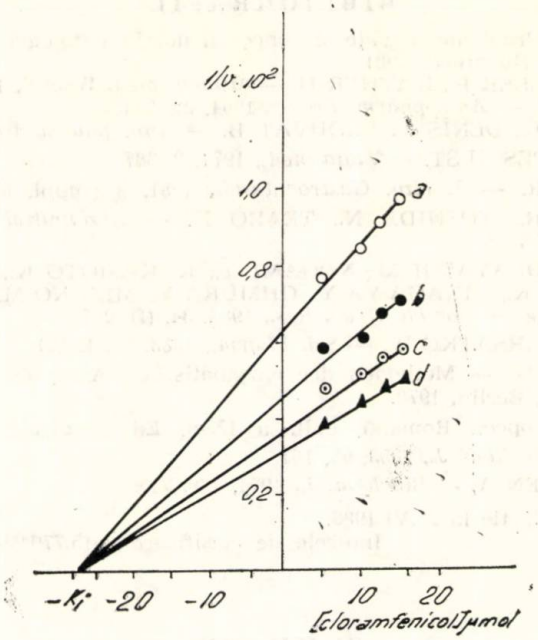


Fig. 5. — Determinarea grafică Dixon a constantei de inhibiție (K_1) pentru cloramfenicol. Concentrația substratului: (a) 2 mg Hb; (b) 3 mg Hb; (c) 4 mg Hb; (d) 5 mg Hb.

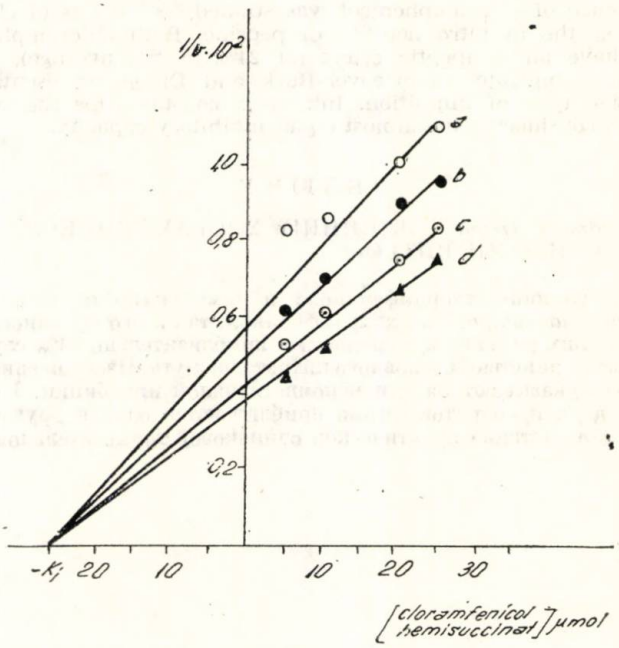


Fig. 6. — Determinarea grafică Dixon a constantei de inhibiție (K_1) pentru cloramfenicol hemisuccinat. Concentrația substratului (a) 2 mg Hb; (b) 3 mg Hb; (c) 4 mg Hb; (d) 5 mg Hb.

BIBLIOGRAFIE

1. PUȘCAȘ I. — Probleme actuale și concepții noi în patolcgia gastro-duodenală, Ed. Medicală, Bucureşti, 1981.
2. SIMON B., MULLER P., KATHER H. — *Münch. med. Wschr.*, 1980, 122, 31, 1 097.
3. PEINDARIES R. — *Ann. pharm. Franç.*, 1964, 22, 294.
4. LE BLOND J. L., DENIS J., FLOUVAT B. — *Ann. pharm. franç.*, 1973, 31 189.
5. FODOR O., POPESCU ST. — *Viața med*, 1971, 9, 387.
6. NAGASHIMA R. — *J. clin. Gastroenterol.*, 1981, 3 (suppl. 8), 103.
7. NAGASHIMA R., YOSHIDA N., TEARO N. — *Arzeimittel — Forsch./Drug Res., 30*, (I), 73.
8. OGAWA M., KOBAYASHI M., NOGAMI Y., KAKAMOTO K., MURAKAMI H., NAKAMOTO K., NINAGAWA Y., OHMURA Y., MIZUNO M., WATANABE K. — *Arzneimittel — Forsch./Drug. Res.*, 1984, 34, (I), 297.
9. KNOPP CH., KARSATKO W. — *Sci. Pharm.*, 1983, 51, 1, 101.
10. BEREGMEYER H. — Methoden der enzymatischen Analyses, ed. a II-a, Akademik Verlag, Berlin, 1970.
11. * * * — Farmacopeea Romană, edit. a IX-a, Ed. Medicală, București, 1976.
12. DIXON M. — *Biochem. J.*, 1953, 55, 161.
13. CORNISH-BOWEN A. — *Biochem. J.*, 1974, 139, 715.

Articol intrat în redacție la 26.VI.1986.

Indicele de clasificare : 615.779.93—06:612.321.5—083

SUMMARY

G. Racz, Alexandrina Oșan — THE INFLUENCE OF CHLORAMPHENICOL ON THE IN VITRO PEPSINE ACTIVITY

The influence of chloramphenicol was studied, as well as of chloramphenicol hemisuccinate on the in vitro activity of pepsine. Both chloramphenicol and its succinic ester have an antipeptic effect (of 24% in the average), comparable to that of bismuth subnitrate. Lineweaver-Burk and Dixon representations indicate a non-competitive type of inhibition. Inhibition constants for the two compounds are very similar, considering the almost equal inhibitory capacity.

РЕЗЮМЕ

Г. Рач, Александрина Ошан — ВЛИЯНИЕ ХЛОРАМФЕНИКОЛА НА АКТИВНОСТЬ ПЕПСИНА «ИН ВИТРО»

Изучалось влияние хлорамфеникола и гемисукцината хлорамфеникола на активность пепсина *ин витро*. Как хлорамфеникол, так и его сукциновый эфир, обладают антипептическим действием/в среднем, в приблизительно 24% случаев/, сравнительно одинаковым с действием основного нитрата бисмута. Изображения Лайнивевера-Бурка и Диксона указывают на тип некомпетитивной ингибиции. Константы ингибиции/Ки/ этих двух препаратов весьма приближаются одна к другой в отношении их значений, в соответствии с практическои одинаковой тормозительной способностью.

Cercetări privind penetrația percutanată a unor dermopreparate cu lactobionat de eritromicină utilizate în tratamentul piodermitelor

Nota III

Iuliana Popovici, Eliza Gafițanu, Iulia Vasiliu, Florica Dima, Maria Vasilescu

Facultatea de Farmacie, I.M.F., Iași

REZUMAT

S-au realizat o serie de dermopreparate cu lactobionat de eritromicină 2% sub formă de: soluții apoase, hidroalcoolice, emulsii de tip U/A și A/U, unguente cu bază lipofilă și tip emulsie A/U și U/A.

Cercetările asupra difuziunii lactobionatului de eritromicină din dermopreparatele formulate au fost necesare pentru stabilirea celei mai indicate forme farmaceutice de condiționare a antibioticului, în vederea realizării unei biodisponibilități optime.

Modificarea permeabilității prin biomembrane s-a cercetat urmărind transportul activ al ionilor de sodiu, prin tegumentul izolat de broască; de asemenea, s-au inițiat experimente de permeabilitate asupra membranei eritrocitului matur de om.

Experimentările efectuate evidențiază că transportul transepitelial al ionilor de sodiu este activat în cea mai mare măsură de emulsia tip U/A. Aceasta presupune o penetrație mai mare a lactobionatului de eritromicină din forma farmaceutică reprezentată de emulsia tip U/A, față de celelalte forme farmaceutice studiate.

Piodermită
Tratament
Antibiotice

Formele farmaceutice și substanțele medicamentoase utilizate în tratamentul afecțiunilor dermatologice sînt foarte variate.

Pentru realizarea celor mai adecvate dermopreparate trebuie să se cunoască aspectele biofarmaceutice, la aplicarea medicamentelor pe piele.

Cei trei factori importanți implicați în absorbția percutanată sînt: învelișul cutanat, substanța medicamentoasă și vehiculul sau excipientul, dintre care factorul care condiționează în cel mai înalt grad acțiunea terapeutică a unui preparat dermatologic, îl constituie bineînțeles substanța medicamentoasă.

Funcția vehiculului este în esență aceea de a îmbunătăți absorbția, facilitînd contactul dintre medicament și straturile pielii responsabile de absorbție. Este cunoscut faptul că absorbția este mai bună cînd vehiculul este constituit din grăsimi animale și vegetale, decît din produse mine-

rale, coeficientul de difuziune al unui medicament fiind invers proporțional cu vîscozitatea vehiculului.

Cunoscînd faptul că absorbția percutană implică procese de difuziune, prin mișcarea spontană a unei substanțe de pe suprafață cu o concentrație mare, pe o suprafață cu o concentrație mică, numeroase cercetări au stabilit importanța umidității asupra absorbției, hidratarea stratului cornos al pielii constituind un factor important în mărirea ei (1, 2). În acest sens vehiculele grase și uleioase sînt cele care au cea mai mare putere ocluzivă și care produc o hidratare mare. Emulsiile de tipul A/U sînt ceva mai puțin ocluzive, iar emulsiile de tip U/A tind să se inverseze pe măsură ce se evaporă faza apoasă externă, în final rămînînd pe piele, ca și în cazul precedent, un film uleios continuu.

Agenții umectanți prezenți în emulsii au tendința să reducă gradul de hidratare al stratului cornos al pielii, prin interferență cu formarea unui film uleios continuu (3). Vehiculele hidrosolubile produc variații minime în hidratarea stratului cornos.

Avantajele emulsiilor de tip U/A, ca formă farmaceutică de aplicare epicutanată, față de unguente, ne-au determinat să studiem în lucrări anterioare (4—6) stabilitatea, toleranța și disponibilitatea unor formule de emulsii cu lactobionat de eritromicină 2%.

În continuarea cercetărilor întreprinse, în prezenta lucrare ne-am propus un studiu privind penetrația percutanată a dermoemulsiilor cu lactobionat de eritromicină realizate, comparativ cu alte forme farmaceutice lichide sau moi, utilizate ca dermopreparate.

Aceste cercetări asupra difuziunii lactobionatului de eritromicină au fost necesare pentru stabilirea celei mai indicate forme farmaceutice de condiționare a antibioticului, în vederea realizării unei biodisponibilități optime.

Bazat pe datele din practica farmaceutică s-au realizat o serie de dermopreparate cu lactobionat de eritromicină, sub formă de : soluții apoase, hidroalcoolice, emulsii și unguente.

Formulările au cuprins (tabelul I):

— soluția apoasă cu lactobionat de eritromicină 2% (formula 1), cantitatea de 2 g alcool fiind necesară pentru dizolvarea mai rapidă a antibioticului în apă ;

— soluția hidroalcoolică, în care se asociază acidul salicilic și resorcina (formula 2), frecvent prescrisă în practica dermatologică;

— două formule de emulsii tip U/A, în care lactobionatul de eritromicină, dizolvat în faza hidrofilă, reprezentată prin soluția conservantă (F.R.IX) este asociată prin emulsionare cu ajutorul emulgatorului stearat de trietanolamină, în faza lipofilă, constituită din parafină lichidă și acid stearic (formula 3); asocierea în formula 3 a tincturii de *Calendula officinalis* (formula 4), care prin conținutul său în calendulină, saponozide triterpenice, ulei volatil și carotinoide are o acțiune complexă (antimicrobiană, calmantă și cicatrizantă);

— trei formule de unguente. Formula 5 cuprinde lactobionatul de eritromicină dispersat sub formă de suspensie într-o bază de unguent lipofilă, formată din ceară și ulei de floarea soarelui ; formula 6 este un unguent hidrofil neionic, emulsie tip A/U, în care lactobionatul de eritromicină dizolvat în soluția conservantă este emulsionat cu ajutorul colesterolului, ca emulgator, în faza lipofilă, formată din ceară, ulei de floarea soarelui și vaselină. Formula 7 este un unguent hidrofil anio-

nic, emulsie tip U/A, care include lactobionatul de eritromicină emulsionat într-o bază de unguent asemănătoare formulei 4.

Realizarea acestor dermopreparate s-a efectuat în condiții aseptice, iar pentru condiționare s-au utilizat recipiente de sticlă de culoare brună, care s-au păstrat la temperatura camerei.

Tabelul I

Preparate farmaceutice cu lactobionat de eritromicină 2%

Ingrediente (g)	*Formula*						
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*
Lactobionat de eritromicină	2	2	2	2	2	2	2
Acid salicilic		1					
Rezorcină		1					
Alcool	2		2				
Parafină lichidă			20	20			20
Ceară					25	10	
Ulei de floarea soarelui					la 100	10	
Stearină			4,40	4,40			15
Trietanolamină			2,88	2,66			2
Tinctura calendula				10			
Lanolină							
Colesterol						2	
Apă distilată	la 100						
Alcool 70°		la 100					
Vaselină						la 100	
Soluție conservantă (FR IX)			la 100	la 100		20	la 100

Formula 1 se indică sub formă de pensulații pe piele, formula 2 se utilizează pentru tenul acneic foarte gras, formulele 3 și 4 (cu denumirea de Eritroacnol și Eritroacnol C), 5,6 și 7 sînt indicate în tratamentul infecțiilor locale stafilococice și streptococice (piodermite).

Studiul modificării permeabilității pentru formulele cu lactobionat de eritromicină 2% s-a cercetat prin urmărirea transportului transepitelial activ al ionilor de sodiu prin tegumentul izolat de broască, folosind metoda Ussing și Zerahn, modificată de colectivul disciplinei de Fiziologie, I.M.F. Iași (7—9). De asemenea s-au inițiat experimente de permeabilitate a membranei eritrocitului matur de om.

În cazul primei metode, experimentările au fost realizate cu un electrodializor, cu 2 compartimente, între care se plasează tegumentele

abdominale de broască. S-au utilizat două fragmente de 2 cm^2 piele de pe abdomenul de broască, care apoi s-au plasat între 2 cuve pline cu soluție Ringer (2 ml) (soluția Ringer utilizată pentru determinări conține: clorură de sodiu 6,50 g, clorură de calciu 0,12 g, clorură de potasiu 0,14 g, bicarbonat de sodiu 0,20 g, fosfat disodic 0,01 g și apă la 1 000 ml), pe care s-a aplicat 0,2000 g probă. Celălalt fragment de piele se plasează între alte 2 cuve identice, cu soluție Ringer (2 ml), pe care s-a aplicat 0,2000 g martor (probă fără antibiotic, în toate cazurile).

S-a măsurat valoarea curentului de scurt-circuit I, în $\mu A/cm^2$ și s-a calculat cantitatea de ioni de sodiu transportați prin piele, pe fiecare perioadă de 5 minute (300 secunde), după formula :

$$Q\mu E = \frac{D.t.I}{F}, \text{ în care}$$

t = intervalul de timp (300 secunde)
I = valoarea curentului de scurt-circuit în $\mu A/nm^3$
F numărul lui Faraday = 96,500 Coulomb/K mol.

Permeabilitatea cutanată a lactobionatului de eritromicină este influențată de natura fizico-chimică a antibioticului, timpul și cantitatea de probă cît și de natura hidrofilă sau lipofilă a vehiculului (în cazul soluțiilor 1 și 2 și emulsiilor 3, 4) sau a excipientului (unguentelor 5, 6 și 7).

În toate cazurile se constată că numai vehiculul sau excipientul influențează mai puțin transportul activ al ionilor de sodiu, comparativ cu formulele care conțin lactobionatul de eritromicină. Astfel se constată că cea mai permeabilitate cutanată o prezintă vehiculul apos (M_1), urmat de emulsiile tip U/A (M_4 și M_3), vehiculul cu alcool diluat (M_2) și într-o foarte mică măsură excipienții tip emulsii A/U (M_5) sau lipofili (M_5) (tabelul II).

Analizînd cantitatea de ioni de sodiu transportați prin tegumentul izolat de broască pe fiecare perioadă de 5 minute (300 secunde), pentru formele farmaceutice luate în studiu, se constată următoarele :

— soluția apoasă de lactobionat de eritromicină 2% activează într-o mare măsură transportul transepitelial de ioni de sodiu (formula 1) și anume prezintă valori mari ale lui Q, care pornesc de la 0,08 μEq și ajung după 60 minute la 0,100 μEg (fig. 1);

— soluția alcoolică de lactobionat de eritromicină (formula 2) prezintă valori mult mai mici comparativ cu soluția apoasă ; valorile lui Q pornesc de la 0,052 μEq și după 20 minute se stabilizează la 0,060 μEq, rămînînd constante pe toată perioada determinărilor (fig. 2). Acidul salicilic și rezorcina, cît și vehiculul alcoolic modifică celulele primului strat al epiteliului de broască și aceasta are consecințe asupra transportului activ al ionilor de sodiu, scăzînd valorile lui Q;

— emulsia U/A cu lactobionat de eritromicină 2% (formula 3) influențează transportul activ al ionilor de sodiu, valorile lui Q pornesc de la 0,075 μEq, fiind apropiate de ale soluției apoase, dar după 15 minute scad la 0,070 μEq și se mențin constante pe toată perioada determinărilor (fig. 3). Această comportare se datorează existenței celor 2 faze ale emulsiei, în care predomină faza hidrofilă, întrucît emulsia este de tip U/A;

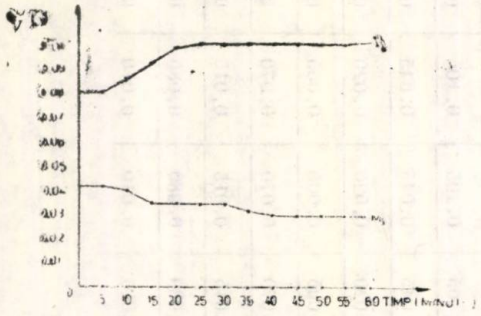
— dintre toate formulările propuse în studiu, pentru realizarea unui dermopreparat cu lactobionat de eritromicină 2%, emulsia de tip

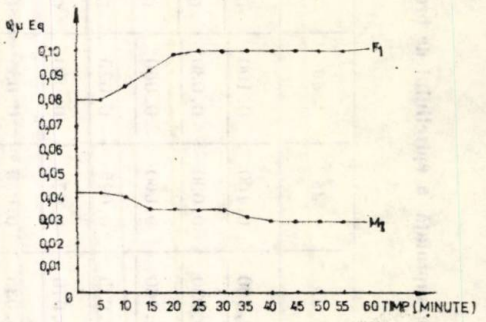
Valori ale cantității de ioni de sodiu transportați în timp prin unitatea de suprafață a epiteliului de broască

Tabelul II

Formula /Q μEq	*Timp/minute* 5	*10*	*15*	*20*	*25*	*30*	*35*	*40*	*45*	*50*	*55*	*60*
F_1	0,080	0,085	0,092	0,098	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
M_1	0,042	0,040	0,035	0,035	0,035	0,035	0,032	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
F_2	0,052	0,055	0,055	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
M_2	0,030	0,030	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
F_3	0,075	0,075	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
M_3	0,030	0,032	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
F_4	0,080	0,095	0,095	0,095	0,105	0,105	0,105	0,105	0,105	0,105	0,105	0,105
M_4	0,040	0,042	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045
F_5	0,020	0,025	0,025	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
M_5	0,010	0,010	0,010	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
F_6	0,065	0,065	0,065	0,068	0,068	0,068	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
M_6	0,020	0,020	0,020	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
F_7	0,075	0,075	0,075	0,075	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
M_7	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010

U/A (formula 4), care conține și tinctura de *Calendula officinalis* 10% activează în cel mai mare grad transportul activ al ionilor de sodiu și anume valorile lui Q pornesc de la 0,08 μEq, ca și în cazul soluției apoase (formula 1), iar după 5 minute de la începerea determinărilor, cresc la 0,095 μEq, iar după 25 de minute ajung la cea mai mare valoare dintre toate probele, la 0,105 μEq, care se menține constantă pe toată perioada determinărilor (fig. 4).





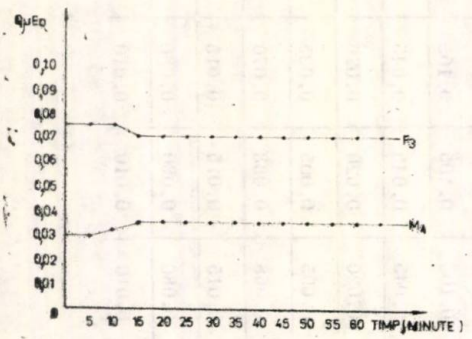


Fig. 1. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența soluției apoase de lactobionat de eritromicină 2%

Fig. 2. — Transportul activ transepitelial de sodiu, prin tegumentul izolat de broască, în prezența soluției alcoolice de lactobionat de eritromicină 2%.

Fig. 3. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența emulsiei tip U/A, cu lactobionat de eritromicină 2%

Activarea transportului transepitelial al ionilor de sodiu, în cazul formulei 4 se datorează existenței saponozidelor triterpenice, care măresc penetrația transmembranară, prin proprietățile tensioactive.

— comparativ cu formulele 1—4, formula 5 care este reprezentată printr-o bază de unguent lipofilă, în care se dispersează sub formă de suspensie antibioticul, prezintă cele mai scăzute valori ale lui Q și anume 0,020 μEq, care cresc ușor la 0,025 μEq, după 5 minute, iar după 20 minute scad din nou la 0,020 μEq (fig. 5);

— formula 6 reprezentată de un unguent hidrofil neionic, tip emulsie A/U, în care lactobionatul de eritromicină, dizolvat în faza hidrofilă este emulsionat în faza lipofilă cu ajutorul colesterolului, prezintă valori ale lui Q apropiate de cele ale formulei 3 și anume pornesc de la 0,065 μEq, după 20 minute cresc la 0,068 μEq iar după 40 minute ajung la aceeași valoare de 0,070 μEq, ca și în cazul emulsiei 3 (fig. 6).

Valorile mici ale lui Q la formulele 5 și 6 se datoresc probabil repartiției moleculelor de lipide pe suprafața epiteliului împiedicînd transportul activ ;

— ultimul dermopreparat studiat, care cuprinde lactobionatul de eritromicină 2% dispersat într-o bază de unguent hidrofil anionică, tip

emulsie U/A (formula 7) prezintă valori mai crescute ale lui Q, decît în cazul unguentului tip emulsie A/U (formula 6) și anume de 0,075 μEq, care după 25 minute cresc la 0,080 μEq și rămîn constante în continuare pe toată perioada determinărilor (fig. 7). Comparativ cu formula 6, for-

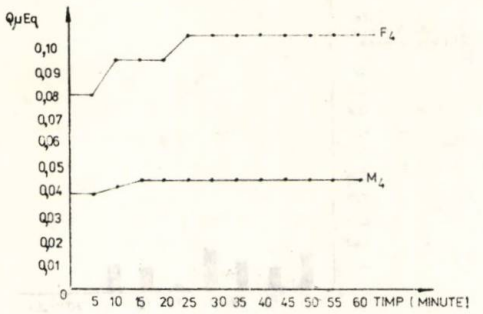


Fig. 4. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența emulsiei tip U/A cu lactobionat de eritromicină 2%

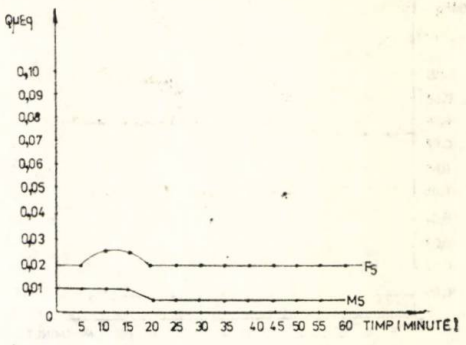


Fig. 5. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența unguentului anhidru cu lactobionat de eritromicină 2%

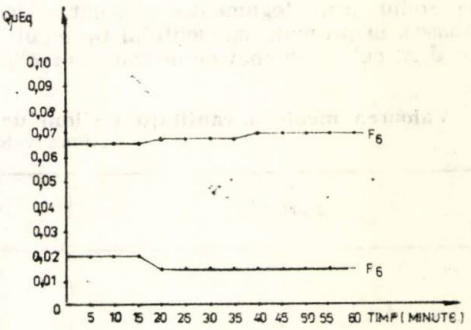


Fig. 6. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența unguentului tip emulsia A/U cu lactobionat de eritromicină 2%

mula 7 conține faza hidrofilă, în cantitate mai mare decît faza lipofilă, ceea ce explică activarea într-o măsură mai mare a transportului transepitelial al ionilor de sodiu prin tegumentul izolat de broască.

Sintetizînd rezultatele determinărilor efectuate privind transportul transepitelial de ioni de sodiu prin tegumentul izolat de broască s-a calculat valoarea medie a cantității de ioni de sodiu, în μEq transportați pe minut (tabelul III) și s-a reprezentat grafic în fig. 8. Se constată că cea mai mare valoare medie a lui Q o prezintă tot formula 4, cu 0,0200 μEq/minut, deci activitatea metabolică la nivelul biomembranei este mai pronunțată în cazul emulsiei de tip U/A (formula 4). Aceasta presupune o penetrație mai mare a lactobionatului de eritromicină din forma farmaceutică reprezentată de emulsia tip U/A față de celelalte forme farmaceutice luate în studiul prezentat.

O altă direcție a cercetărilor a constituit-o inițierea unor experimente de permeabilitate a membranei eritrocitului matur de om. Alegerea membranei eritrocitare ca model experimental nu este doar consecința unor argumente foarte frecvent invocate, care decurg din facilitățile de ordin experimental (obținere, izolare și reproductibilitate a datelor) ci, în primul rînd a faptului că membrana eritrocitului se identifică, în cea mai mare măsură, din punct de vedere structural și funcțional cu biomembranele celorlalte tipuri de celule.

Hematia reprezintă o celulă înalt specializată, la care biomembrana are același rol de barieră dinamică vie, ca la orice alt tip de celulă. Inexistența nucleului celular, în acest caz, nu este o probă că globulul roșu este o celulă rudimentară. Date recente demonstrează rolul eritrocitelor

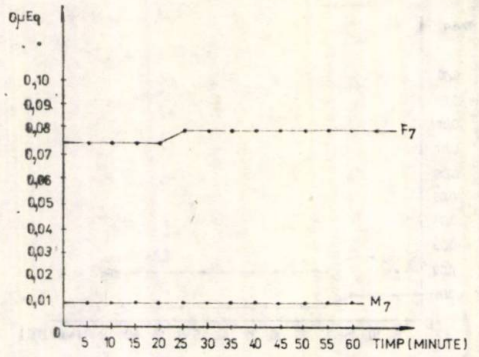


Fig. 7. — Transportul activ transepitelial de sodiu prin tegumentul izolat de broască, în prezența unguentului tip emulsie U/A. cu lactobionat de eritromicină 2%

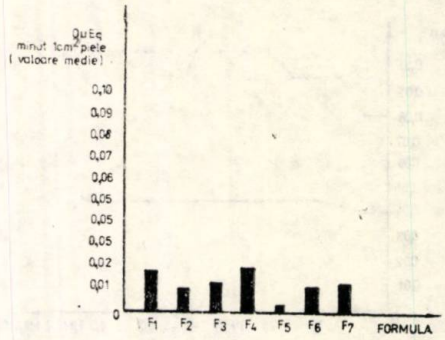


Fig. 8. — Valoarea medie a cantității de ioni de sodiu transportați pe minut.

Tabelul III

Valoarea medie a cantității de ioni de sodiu în µEq transportați pe minut
(suma valorilor : 60)

Formula	*Valoarea medie Q = µEq/minute/1 cm² piele*
1	0,01775
2	0,01070
3	0,01300
4	0,02008
5	0,00383
6	0,01245
7	0,014333

într-o serie de procese imunologice (10). Alt argument îl constituie faptul că eritrocitul se comportă ca o celulă de răsunet a unor procese din organism.

Într-o serie de experimente au utilizat hematii grupa O I, provenite de la donatori sănătoși. Am folosit testul cineticii hemolizei (tehnica clasică), adăugînd în mediile cu diverse concentrații de clorură de sodiu, cîte 0,01 ml din dermopreparatele cu lactobionat de eritromicină 2% (soluția apoasă — formula 1 și soluția alcoolică — formula 2), urmărind la ce concentrație se produce hemoliza, comparativ cu martorul (soluțiile fără antibiotice) (tabelul IV). Valorile normale sînt : hemoliza inițială apare la concentrația de 0,44 g% clorură de sodiu, iar hemoliza totală la 0,32 g% clorură de sodiu (tabelul V). Aceste valori indică o creștere a rezistenței osmotice *in vitro* a hematiilor. Presupunem că lactobionatul de eritromicină din dermopreparatele 1 și 2 conferă hematiei o modificare a configurației suprafeței biomembranei, care o face mai rezistentă la șocul osmotic, furnizînd astfel, indirect, informații asupra intervenției antibioticului asupra fenomenelor de transport transmembranar. Experimentările nu au fost posibile și în cazul celorlalte formule

In concluzie s-a studiat penetrația transmembranară a lactobionatului de eritromicină dintr-o serie de dermopreparate, sub formă de soluție apoasă, hidroalcoolică, emulsii de tip U/A și A/U, unguente cu bază lipofilă și tip emulsie U/A și A/U. S-a urmărit transportul activ al ionilor de sodiu, prin tegumentul izolat de broască ; de asemenea s-au inițiat experimente de permeabilitate asupra membranei eritrocitului matur de om.

Tabelul IV

Concentrația de clorură de sodiu la care se produce hemoliza

Proba	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*
Clorură de sodiu g%	0,68	0,66	0,64	0,62	0,60	0,58	0,56	0,54
Proba	9	10	11	12	13	14	15	16
Clorură de sodiu g%	0,52	0,50	0,48	0,46	0,44	0,42	0,40	0,38
Proba	17	18	19	20	21	22		
Clorură de sodiu g%	0,36	0,34	0,32	0,30	0,28	0,26		

Tabelul V

Concentrația de clorură de sodiu la care se produce hemoliza inițială și totală

Formula	*Concentrația de clorură de sodiu (g%) pentru*	
	hemoliza inițială	*hemoliza totală*
1	0,30	0,26
Martor 1	0,42	0,32
2	0,32	0,28
Martor 2	0,40	0,30

Experimentările efectuate evidențiază că transportul transepitelial al ionilor de sodiu este activat în cea mai mare măsură de emulsia tip U/A (formula 4). Aceasta presupune o penetrație mai mare a lactobionatului de eritromicină din formula farmaceutică reprezentată de emulsia tip U/A, față de celelalte forme farmaceutice studiate.

BIBLIOGRAFIE

1. CASADIO S. — Tehnologia farmaceutică, ed. a II-a, Cisalpino, Milano, 1972.
2. WURSTER D. E. — KRAMER S. E. — *J. Pharm. Sci.*, 1961, 50, 288.
3. STĂNESCU V., BRĂILEANU CL., MOTOCESCU RAISA, BEACA MARIETA— Practica farmaceutică Ed. Medicală, București, 1975 ,iunie p. 3—58.
4. GAFIȚANU ELIZA, DIMA FLORICA, POPOVICI IULIANA, VASILESCU MARIA, DORNEANU V., PETRESCU ZENAIDA — Brev. Rom., 88712/12/nr. 887, 24 septembrie 1985
5. POPOVICI IULIANA, GAFIȚANU ELIZA, DIMA FLORICA, DORNEANU V., VASILESCU MARIA, HRISCU ANIȘOARA, VOITCU MARIANA, GHERASIM P., PETRESCU ZENAIDA — Cercetări privind realizarea și controlul unor dermoemulsii de tip U/A, cu lactobionat de eritromicină, utilizate în tratamentul piodermitelor. Nota, *Farmacia (Buc.)*, 1986, *34*, 4.
6. POPOVICI IULIANA, AFIȚANU ELIZA, BRAHA STERIANA, DIMA FLORICA, VASILESCU MARIA — Caracterizarea reologică a unor dermoemulsii de tip U/A cu lactobionat de eritromicină, utilizate în tratamentul piodermitelor. Nota. II. *Farmacia (Buc.)*, (sub tipar)

7. CREȚEANU GH., HĂULICĂ I., TOPOLICEANU FL., RIEGLER B., PETRESCU C. — *Rev. Med. Chir. (Iași)*, 1968, LXXII, 1, 91—96.
8. TOPOLICEANU FL. — Permeabilitatea pentru potasiu și sodiu a membranelor biologice, Teză de doctorat, I.M.F. Iași, 1974.
9. VASILIU IULIA — Aspecte ale funcțiilor biomembranelor eritrocitare în unele stări fiziologice și patologice. Teză de doctorat, I.M.F. Iași, 1983.
10. RUSU V., BARAN TR., VASILIU IULIA — Perturbarea experimentală a distribuției ionului potasiu și sodiu eritrocitar, Al. VI-lea Simpozion Național de Biofizică, Iași, 1983
Articol intrat în redacție la 24.II.1986

Indicele de clasificare : 616.5—002.3—085.779.931

SUMMARY

Iuliana Popovici, Eliza Gafițeanu, Iulia Vasiliu, Florica Dima, Maria Vasilescu — STUDIES ON DERMAL PENETRATION OF SOMEDERMAL PREPARATIONS CONTAINING ERYTHROMYCINE LACTOBIONATE, EMPLOYED IN THE TREATMENT OF PYODERMITIS. NOTE III

A series of dermal preparations containing 2% erythromycine lactobionate have been presented under the form of aqueous solutions, hydro-alcoholic solutions, U/A and A/U emulsions, onguents with a lypophillic base and A/U and U/A emulsions. Studies on the diffusion of erythromycine lactobionate from the dermal preparations were necessary in view of establishing the most appropriate pharmaceutical forms of conditioning of the antibiotic, so as to achieve optimal bioavailability. Changes of permeability through biomembranes was evaluated by following the active transport of sodium ions through the isolated from skin. Experiments were also carried out on the membranes of human erythrocytes. The experiments evidenced that transcutaneous transport of sodium ions is activated to the highest degree by the U/A emulsion. These indicates a better penetration through the skin by erythromycine lactiobionate from the U/A emulsion, as compared with the other pharmaceutical forms investigated.

РЕЗЮМЕ

Юлиана Попович, Елиза Гафицяну, Юлия Василиу, Флорика Дима, Мария Василеску — ИССЛЕДОВАНИЯ В СВЯЗИ С ПРОНИКНОВЕНИЕМ В КОЖУ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЛАКТОБИОНАТ ЭРИТРОМИЦИНА И ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПИОДЕРМИТОВ. ЗАМЕТКА III

Был изготовлен ряд дерматологических препаратов, содержащих 2% лактобионата эритромицина в различных формах, а именно: водных и гидроалкогольных растворов, эмульсий типа U/A и A/U, мазей на липофильной основе и типа эмульсий И/А м А/И

Исследования в связи с диффузией лактобионата эритромицина из приготовленных препаратов были необходимы для установления наиболее показанной фармацевтической формы кондиционирования антибиотика в виду достижения наилучшей биологической способности его использования.

Изменение проницаемости сквозь биологические мембраны определялось изучаясь активный перенос ионов натрия через изолированную кожу лягушки: были также начаты опыты в связи с проницаемостью эритроцитной оболочки взрослого человека.

Проведенные опыты указывают, что трансэпителиальный перенос ионов натрия активируется в наивысшей мере эмульсией типа U/A. Это предполагает существование более усиленного проникновения лактобионата эритромицина, содержащегося в фармацевтической форме эмульсии типа U/A, по сравнению с остальными изученными фармацевтическими формами.

Cinetica cedării in vitro și biodisponibilitatea Mg^{2+} din comprimatele de Trimag

Iuliana Popovici, M. Pavelescu, Maria Stan, Maria Miftode, V. Dorneanu, I. Mîndreci, Eliza Gafițanu, M. Dumitrache

Facultatea de farmacie I.M.F., Iași

REZUMAT *S-a determinat viteza de cedare a Mg^{2+} din comprimatele de Trimag, realizate în cadrul Laboratorului de microproducție al Facultăți de Farmacie Iași, preparat indicat în toate formele sub care se manifestă deficitul de magneziu; determinarea cantitativă a Mg^{2+} s-a efectuat complexonometric. Timpul de cedare se încadrează în limitele impuse la determinarea dezagregării, cu diferențe de la un lot de comprimate la altul. obținute au pus în evidență faptul că' biodisponibiliattea Mg^{2+} din absorbție* per os *din comprimatele de Trimag, comparativ cu preparatul de referință Magnespasmyl 50; Mg^{2+} s-a determinat cantitativ prin spectroscopie de absorbție atomică. Rezultatele obținute au pus în evidență faptul că biodisponibilitatea Mg^{2+} din comprimatele de Trimag este asemănătoare cu cea a preparatului Magnespasmyl, atestînd bioechivalența acestora.*

Magnesium
Biodisponibilitate

Importanța pentru terapeutică a ionului magneziu, care este implicat în numeroase procese fiziologice sau patologice, a suscitat interesul cercetărilor în vederea realizării unor preparate farmaceutice cu biodisponibilitate optimă.

Astfel, produsul Trimag, comprimate, cu formula: nicotinat de magneziu 0,05 g, formiat de magneziu 0,1 g, lactat de magneziu 0,1 g și excipient pînă la 0,5 g pe un comprimat (tabelul I) este realizat în cadrul Laboratorului de Microproducție al Facultății de Farmacie din Iași.

Procesul tehnologic de obținere a comprimatelor de Trimag, prin granulare pe cale umedă este redat în fig. 1.

Caracteristicile comprimatelor de Trimag sînt prezentate în tabelul II.

Preparatul se utilizează în toate formele sub care se manifestă deficitul de magneziu : spasmofilie, tetanie latentă și manifestă, distonii vegetative, spasme musculare, hipertiroidie, profilaxia și terapia afecțiunilor cardiovasculare, adjuvant al infarctului miocardic, ateroscleroză, hipertensiune arterială, tromboembolii, spasme vasculare cerebrale, stări nevrotice, dermite alergice, profilaxia calculozei prin oxalați de calciu (1—6).

În lucrări anterioare (7, 8) s-au comunicat rezultatele cercetărilor privind influența unor excipienți aglutinanți și diluanți asupra calității comprimatelor de Trimag.

În cercetarea întreprinsă s-a urmărit disponibilitatea *in vitro* a magneziului din preparatul Trimag, prin determinarea vitezei de cedare

Tabelul I

Formula unui comprimat de Trimag

Nr. crt.	*Denumirea materiilor prime*	*Cantitate (g)*
1	Nicotinat de magneziu	0,05
2	Lactat de magneziu	0,10
3	Formiat de magneziu	0,10
4	Amidon	0,15
5	Lactoză	0,08
6	Talc	0,01
7	Stearat de magneziu	0,005
8	Spirt de gelatină	q.s.

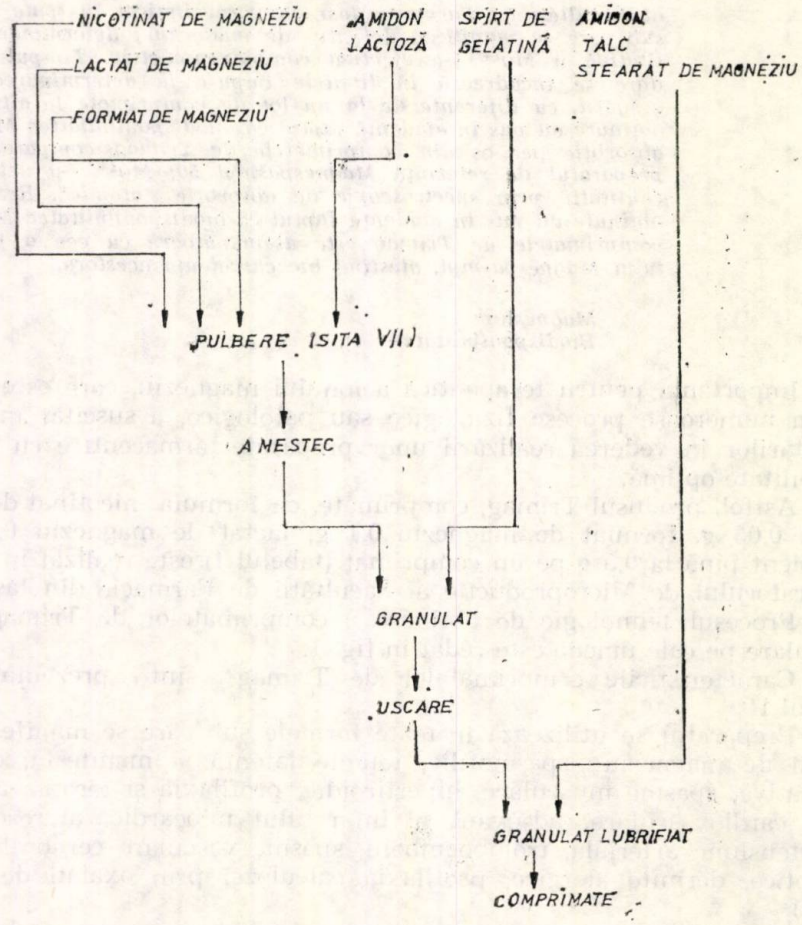


Fig. 1. — Procesul tehnologic de obținere a comprimatelor de Trimag.

a Mg^{2+} ; dintre procedeele experimentale cunoscute s-a ales metoda coșului rotativ oficializată de U.S.P. XIX (9).

Rezultatele determinărilor sînt prezentate sub forma graficului din fig. 2, unde este redată variația conținutului în Mg^{2+}, în funcție de timp.

Se constată că cedarea în soluție a Mg^{2+} începe imediat ; după 2 minute se ajunge la valoarea 22,55%, respectiv 22,11%; la 8 minute

Tabelul II

Caracteristicile comprimatelor de Trimag

Nr. crt.	*Parametrii cercetați*	*Comprimate de Trimag*	*Observații*
1	Aspect	Formă de discuri plate, cu aspect uniform, margini intacte, culoare albă, pe o parte imprimat : 3/Mg	
2	Greutate medie	0,5±6%	Balanța analitică Sibiu
3	Rezistența la sfărîmare	3,5 Kgf/cm²	Dinamometru Pfizer
4	Friabilitate	0,5	Tester Erweka
5	Timp de dezagregare	Maximum 11—15 minute	Conform F.R. IX
6	Conținut în Mg^{2+} (mg/comprimat)	28,5—32,5	Norma de calitate „Trimag" I.C.S.M.C.F. Cod 850.510 A—784C.M.

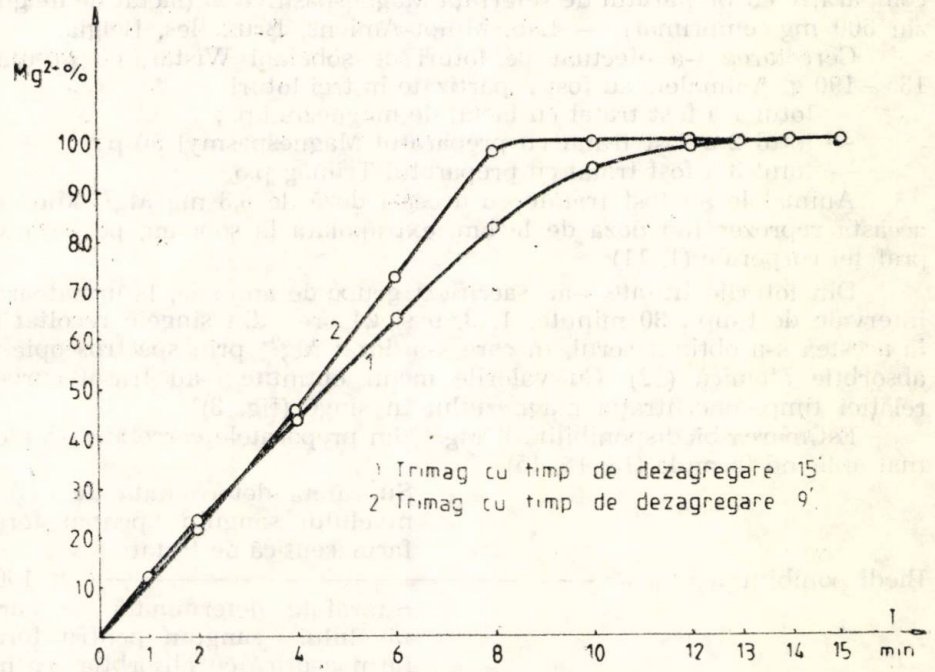


Fig. 2. — Variația conținutului în Mg^{2+} în funcție de timp.

se cedează 84%, respectiv 72,68%, atingîndu-se valoarea maximă la 13 minute pentru sortul 1 și 9 minute pentru sortul 2.

Timpul de cedare a Mg^{2+} din comprimatele de Trimag se încadrează în limita timpului de dezagregare impus de F.R. IX (15 minute) (10), cu diferențe de la un lot de comprimate la altul.

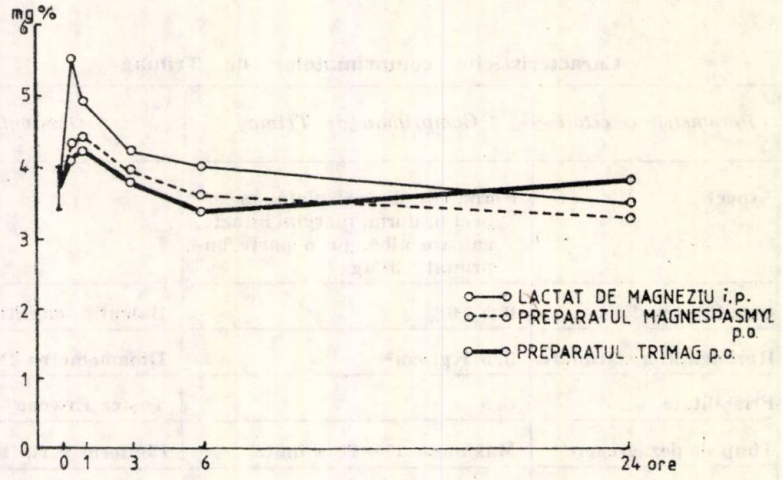


Fig. 3. — Curbele relației timp-concentrație Mg^{2+} în sînge.

În continuare, s-a cercetat experimental biodisponibilitatea sistemică a magneziului din comprimatele de Trimag, după absorbție *per os*, comparativ cu preparatul de referință Magnespasmyl 50 (lactat de magneziu 500 mg/comprimat). — Lab. Millot-Amiens, Bruxelles, Belgia.

Cercetarea s-a efectuat pe loturi de șobolani Wistar, cu greutate 135—190 g. Animalele au fost repartizate în trei loturi :

— lotul 1 a fost tratat cu lactat de magneziu i.p. ;

— lotul 2 a fost tratat cu preparatul Magnespasmyl 50 p.o.;

— lotul 3 a fost tratat cu preparatul Trimag p.o.

Animalele au fost tratate cu aceeași doză de 8,3 mg Mg^{2+}/kilocorp, aceasta reprezentînd doza de la om, extrapolată la șobolan, pe baza suprafeței corporale (1, 11).

Din loturile tratate s-au sacrificat grupe de animale, la următoarele intervale de timp : 30 minute, 1, 3, 6 și 24 ore ; din sîngele recoltat de la acestea s-a obținut serul, în care s-a dozat Mg^{2+} prin spectroscopie de absorbție atomică (12). Cu valorile medii obținute s-au trasat curbele relației timp-concentrația magneziului în sînge (fig. 3).

Estimarea biodisponibilității Mg^{2+} din preparatele cercetate s-a efectuat aplicînd formula (13, 14, 15).

$$\text{Biodisponibilitatea } \% = \frac{\text{Suprafața determinată de curba nivelului sanguin pentru forma farmaceutică de testat}}{\text{Suprafața determinată de curba nivelului sanguin pentru forma farmaceutică cu absorbția cea mai rapidă.}} \times 100$$

Rezultatele sînt prezentate în tabelul III.

Din grafic se constată că preparatul Trimag are o valoare inițială a magneziului mai mică, dar apropiată de cea a preparatului de referință Mgnespasmyl 50, valoare care crește în timp și se menține mai ridicată decît la celelalte preparate. Aceasta s-ar explica prin prezența celor trei săruri de magneziu asociate în preparatul Trimag.

Tabelul III

Estimarea biodisponibilității Mg^{2+} din preparatele studiate

Preparatul	*Calea de administrare*	*Suprafața determinată prin curba nivelului sanguin (mm^2)*	*Biodisponibilitate %*
Lactat de magneziu	i.p.	4 352,5	100
Magnespasmyl 50	p.o.	1 952,5	44,86
Trimag	p.o.	2 327,5	53,48

Analiza datelor din tabelul III relevă faptul că preparatul Trimag asigură o biodisponibilitate a magneziului foarte asemănătoare cu cea a preparatului de referință — Magnespasmyl 50, atestînd bioechivalența preparatelor.

Aceste rezultate îndreptățesc presupunerea că cele 2 medicamente sînt echivalente și din punct de vedere al farmacodinamiei clinice.

Cercetările orientative efectuate pe animale vor trebui completate prin evaluarea biodisponibilității Mg^{2+} în condiții clinice, date care vor constitui un argument hotărîtor în atestarea eficienței terapeutice a noului medicament românesc — Trimag.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * — Prospect Trimag — Laboratorul de microproducție. Facultatea de farmacie, Iași, 1980
2. * * * — Norma de calitate Trimag — I.C.S.M.C.F. ,cod 850510, A. 784 C.M.
3. STRATONE ANA — Rev-Med. Chir. (Iași), 1986, 1, 181—186.
4. STRĂJESCU M., FELICIA TEODOR — Elemente de chimie bioanorganică, Ed. Dacia, Cluj, 1979.
5. GRECU I., NEAMȚU MARIA, ENESCU L. — Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice, Ed. Junime, Iași.
6. DOBRESCU D. — Farmacoterapia, Edit. Medicală, București, 1981.
7. DUMITRACHE M., DORNEANU V., POPOVICI IULIANA, STAN MARIA, MIFTODE MARIA — Rev. Med. Chir (Iași), 1984, 88, 1, 145—147.
8. DUMITRACHE M., DORNEANU V., POPOVICI IULIANA, STAN MARIA, MIFTODE MARIA, BACIU I., BARAN TR. — Optimizarea tehnologiei de obținere a comprimatelor de Trimag-volumul cu rezumatele lucrărilor la al VIII-lea Congres Național de Farmacie, București, 1984, p. 102—103.
9. * * * — U.S.P. XIX, New York, 1982.
10. * * * — Farmacopeea Română, Ed. a IX-a, Edit. Medicală, București, 1976.
11. PAGET G. E., BARNES J. M. — Evaluation of Drug Activities. Pharmacometrics, vol. I, p. 135—166 (red.) Laurence D. R., Bacharach A. L., Academic Press New York, 1964.
12. * * * — Datenblätter für die Atom-Absorbtions, Flammenanalyse, p. 31, V.E.B., Carl Zeiss ena, D.D.R., 1968.
13. LEUCUȚA S. E. — Introducere în biofarmacie, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1975.
14. CRISTIAN ELENA, PESICI C., TÎRLEA ELENA — Produse farmaceutice, vol. II, p. 119—139, Edit. Medicală, 1973.
15. LEUCUȚA S. E., POP R. D. — Farmacocinetica, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1981.

Articol intrat în redacție la 10.XII.1986.

Indicele de clasificare : 615.732.3—033—092.254

SUMMARY

Iuliana Popovici, M. Pavelescu, Maria Stan, Maria Miftode, V. Dorneanu, I. Mindreci, Eliza Gafiţeanu, M. Dumitrache — THE KINETICS OF IN VITRO LIBERATION AND BIOAVAILABILITY OF MAGNESIUM IONS FROM TRIMAG TABLETS

The liberation speed was determined, of magnesium ions from TRIMAG tablets prepared in a specialized laboratory from the Pharmacy Faculty of Jassy. This preparation is indicated in all forms of magnesium deficiency. The quantitative determination of magnesium ions was done by complexometry. The liberation speed was found to be within limits demanded by de-aggregation determination. There were differences between the various batches of tablets. Bioavailability was also determined, of magnesium ions, following per os absorption of magnesium from TRIMAG tablets, as compared with the reference preparation (Magnespasmyl 50). Magnesium ions were determined quantitatively by atomic absorption spectroscopy. The results obtained have evidenced the fact that bioavailability of magnesium ions from TRIMAG tablets is similar to that from the reference preparation (Magnespasmyl 50), an dit was concluded that these two preparations are biologically equivalent.

РЕЗЮМЕ

Юлиана Попович, М. *Павелеску*, *Мария Стан*, *Мария Мифтоде*, *В. Дорняну*, *И. Мындреч*, *Елиза Гафицяну*, М. *Думитраке* — КИНЕТИКА ОТДАЧИ ИН ВИТРО И БИОРЕСУРСЫ M_g^{2+} ТАБЛЕТКА ТРИМАГА

Определяется скорость отдачи M_g^{2+} таблеток ТРИМАГА, осуществленные в рамках Лаборатории малого производства Институты Фармакологии города Яссы, препарат указанный против всех формах которыми проявляется дефицит магния; количественное определение M_g^{2+} осуществилось комплексометрически. Время отдачи вписывается в объязанные пределы при определении разложения, с разницами от одной партии таблеток к другой.

Также, биозапасы M_g^{2+} после абсорбции пернос из таблеток Тримага, сравнительно с препаратом Магнеспасмил 50; M_g^{2+} количественно определяется спектроскопией атомной абсорбции. Полученные результаты выявили что биозапасы M_g^{2+} таблеток Тримага подобная препарату Магнеспасмил, подтверждая их биоэквивалентность.

Cercetări farmacocinetice și de preformulare asupra unor precursori bioreversibili ai metronidazolului

Doina Ghiran*, **S. E. Leucuța***, **I. D. Postescu****
Facultatea de Farmacie*, Institutul Oncologic**, Cluj-Napoca

REZUMAT

S-au sintetizat doi precursori medicamentoși ai metronidazolului: esterul fosforic sare dipotasică, foarte ușor solubil în apă și esterul benzoic, foarte greu solubil în apă. Fosfatul de metronidazol, adminstrat în doză unică subcutanat la șobolani, suferă o conversie enzimatică la metronidazol, a cărui farmacocinetică a fost descrisă printr-un model bicompartimentat pentru care s-au calculat constantele caracteristice.

Farmacocinetica fosfatului de metronidazol este asemănătoare unei doze echivalente de metronidazol. Hidroliza benzoil metronidazolului in vitro *în ser la 37°C a arătat o dispariție conform unei cinetici de ordinul zero. S-a preparat o soluție injectabilă cu fosfat de metronidazol și o suspensie apoasă floculată de uz oral cu benzoil metronidazol. Cercetările de preformulare asupra suspensiei au dovedit că aceasta posedă caracteristici fizico-chimice corespunzătoare administrării în vederea unor viitoare studii* in vivo.

Plante medicinale
Flavone

Metronidazolul se utilizează frecvent în tratamentul tricomoniazei, iar recent s-a dovedit eficient pentru prevenirea și tratamentul infecțiilor cu germeni anaerobi (1, 2). Metronidazolul este și un sensibilizant al celulelor hipoxice la efectele radiației, avînd și un efect citotoxic *per se* cînd celulele tumorale în condiții de hipoxie sînt supuse acțiunii substanței medicamentoase pe o durată de timp mai mare (3—5). Medicația cu metronidazol reclamă însă doze unice sau repetate, relativ mari, care pot fi de 6 g/m^2 (4). Acest lucru se realizează dificil, pe de o parte din cauza solubilității reduse în apă a metronidazolului, ceea ce face ca soluțiile perfuzabile să conțină cel mult 5 mg/ml, iar pe de altă parte, datorită reacțiilor adverse gastrointestinale care apar după administrarea perorală a unor doze mari.

În lucrări anterioare am studiat farmacocinetica metronidazolului după doze unice intravenos, oral, rectal și vaginal la subiecți umani (6—9) Se știe că unele inconveniente ale formulării medicamentelor determinate de proprietățile organoleptice, fizico-chimice sau farmacocinetice ale substanțelor medicamentoase, pot fi depășite prin sinteza unor derivați bioreversibili, precursori medicamentoși (10). În cazul metroni-

dazolului s-a sintetizat esterul fosforic, solubil în apă, care poate fi convertit la metronidazol, prin hidroliză enzimatică, în organism (11—13). Se cunoaște, de asemenea, și esterul benzoic al metronidazolului care are o solubilitate foarte mică în apă, dar are avantajul de a fi lipsit de gust și mai puțin iritant al mucoasei digestive, decît metronidazolul (14).

În această lucrare s-a studiat farmacocinetica esterului fosforic al metronidazolului derivat bioreversibil, foarte ușor solubil în apă, administrat în doză unică, subcutant, la șobolani, pentru a evalua posibilitatea utilizării sale în medicamente parenterale în concentrații mari (15). De asemenea, s-au efectuat studii de preformulare asupra esterului fosforic al metronidazolului și asupra esterului benzoic al metronidazolului, acesta din urmă avînd o solubilitate foarte mică în apă, dar un gust mai puțin neplăcut decît metronidazolul, fiind sub acest aspect un posibil agent medicamentos pentru suspensii de uz oral și eventual cu efecte toxice gastrointestinale mai reduse.

MATERIAL ȘI METODE

Sinteza esterului fosforic al metronidazolului

S-a făcut prin tratarea 1—(2-hidroxietil)-2 metil-5-nitroimidazolului cu pentoxid de fosfor și acid fosforic la 100—110°C, urmată de adăugarea unei soluții apoase de carbonat de potasiu 20%. Practic s-a pornit de la 7 g P_2O_5 și 3 ml H_3PO_4 89% la care s-au adăugat sub agitare 4 g 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol, menținînd amestecul la 105°C timp de 3 ore, cu agitare ocazională. S-au adăugat apoi 40 ml apă și s-a menținut 20 minute pe baie de apă în fierbere, după care s-a adăugat o soluție apoasă de Ba $(OH)_2$ pînă la pH=7,1. Fosfatul de bariu precipitat se filtrează și se spală cu apă caldă. Filtratul și apele de spălare se concentrează la presiune redusă pînă la 30 ml, se adaugă 30 ml metanol. Precipitatul obținut (5,5 g) se filtrează, se spală cu metanol și se usucă. Se dizolvă apoi în 150 ml apă caldă și se tratează cu 10 ml CO_3K_2 20%. Se filtrează precipitatul de CO_2Ba, iar filtratul se evaporă la sec sub presiune redusă. Reziduul se reia cu 100 ml amestec metanol : eter (1:1). După recristalizare din 100 ml metanol, se obțin 4 g sare dipotasică

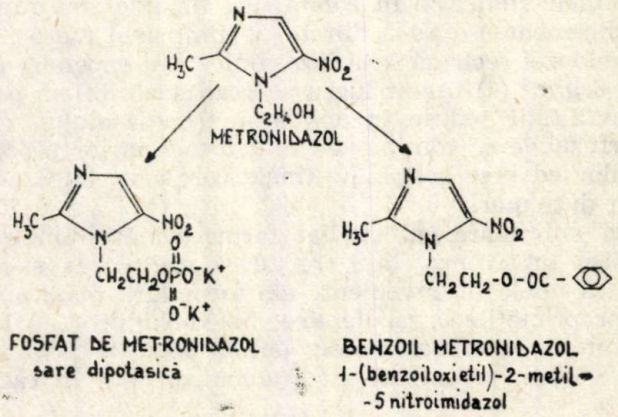


Fig. 1

a 1-(2-etil-fosfat)-2 metil-5-nitroimidazolului. Analiza elementară corespunde substanței cristalizate cu 3 molecule de apă de cristalizare, avînd greutatea moleculară 381.37 (schema din fig. 1).

Fosfatul de metronidazol se prezintă ca o pulbere de culoare gălbuie, higroscopică, care se închide la culoare prin păstrare la lumină. Se topește la 110°C și se descompune la 160—165°C. Unele proprietăți fizico-chimice și farmacologice ale fosfatului de metronidazol (FMN) comparativ cu metronidazolul (M) (12): solubilitate în apă (20°C): FMN: 1 000 g/l; M:10; coeficient de repartiție octanol/apă (pH=7; 20°C): FMN; 0,01; M: 0,96; absorbție maximă în UV (nm): FMN: 320; M=320; coeficient de absorbție molară la pH=7 (10 g Σ): FMN: 3,94; M: 3,97 ; toxicitatea acută *in vivo* DL_{50}(mg/kg șoarece): FMN: 195^{+70}_{-60}; M : 1500 ; timp de înjumătățire biologică la șoareci după injectare i.p. 1 500 mg/kg: FMN: 3—4 ore; M: 1,5 ore.

Sinteza benzoatului de metronidazol

17,1 g (0,1 mol) 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol fin pulverizat, se suspendă într-un amestec de 175 ml cloroform și 8,2 (0,104 mol) piridină și se răcește la 5°C. Peste suspensia răcită, se adaugă sub agitare continuă, o soluție formată din 14,6 g (0,104 mol) clorură de benzoil și 16 ml cloroform. Se menține la temperatura camerei, sub agitare continuă 2 ore și apoi se lasă în repaus 15 ore. Produsul de reacție se tratează cu apă, soluție de bicarbonat de sodiu și se agită pînă nu mai degajă dioxid de carbon. Soluția cloroformică se separă, se spală de 2 ori cu apă distilată și apoi stratul cloroformic separat, se concentrează la presiune redusă. Esterul brut obținut se recristalizează din acetat de etil în amestec cu hexan. Se obține un produs alb, cristalin cu pt 102°C (Rand. 85%) (schema din fig. 1).

Analiza elementară corespunde formulei $C_{13}H_{13}N_3O_4$; N% calc. 15,26 N% găsit 15,50.

Studii farmacocinetice la șobolani. S-au administrat doze unice de fosfat de metronidazol și de metronidazol, echivalente cu 50 mg metronidazol/kg, pe cale subcutanată la șobolani. Pentru fiecare substanță medicamentoasă s-au folosit loturi de șobolani în greutate de 200 g (±20 g), cîte trei pentru fiecare timp de recoltare menționat mai departe. Ambele substanțe medicamentoase s-au administrat sub formă de soluție, dizolvate în 10% dimetilformamidă în apă. Din fiecare lot, s-au sacrificat cîte trei animale la următoarele perioade de timp față de momentul administrării dozei: 0; 30; 45; 60; 90; 120; 240; 360 minute. S-a recoltat sîngele și s-a separat serul. Metronidazolul din ser s-a determinat cantitativ după separare CSS printr-o metodă spectrală descrisă în literatură (16).

Calculul farmacocinetic. Valorile concentrațiilor medicamentoase în timp ale metronidazolului în ser au fost descrise corespunzător, cu ajutorul ecuației caracteristice modelului farmacocinetic deschis bicompartimentat (17). Constantele farmacocinetice s-au calculat cu ajutorul unui calculator numeric KSR-4100 Robotron (R.D.G.). Biodisponibilitatea relativă (BD_{rel}) s-a exprimat procentual și s-a calculat prin împărțirea ariei de sub curba concentrațiilor medicamentoase din ser (ASC) ale metronidazolului rezultat după administrarea fosfatului de metronidazol, față de ASC produsă după administrarea metronidazolului.

Hidroliza serică a benzoil metronidazolului

Dintr-o dispersie apoasă 0,4% a benzoil metronidazolului realizată cu polisorbat 80, s-au luat cîte 0,5 ml care s-au adăugat la 9,5 ml ser, realizînd o concentrație de 0,2 mg benzoilmetronidazol/ml ser, în eprubete care s-au închis și s-au menținut la termostat la 37°C. La diferite perioade de timp, s-au luat probe de 1,0 ml care s-au extras cu cloroform, iar metronidazolul s-a separat prin CCS și determinat spectral în UV după o tehnică descrisă (16).

Compoziția soluției injectabile cu fosfat de metronidazol: fosfat de metronidazol 10,0 g; soluție tampon fosfat (Sorensen) (pH=6,4) pînă la 100 ml. Se amestecă 83 ml soluție fosfat monopotasic (PO_4H_2K) 1/15 molar cu 17 ml soluție fosfat dipotasic ($PO_4HNa_2 \cdot 2H_2O$) 1/15 molar, se adaugă peste cele 10 g fosfat de metronidazol pînă se completează la 100 ml. Se filtrează și se sterilizează la 100°C 30 minute.

Studiul stabilității chimice a soluției injectabile cu fosfat de metronidazol s-a făcut după păstrarea soluției la temperatura camerei, timp de 6 luni. S-a determinat conținutul de substanță medicamentoasă, spectrofotometric în UV la 320 nm. Întrucît atît esterul cît și metronidazolul au același coeficient de absorbție molară, s-a efectuat și o separare a metronidazolului eventual format, prin CSS, extracție și determinare spectrală (16).

Compoziția suspensiei orale cu benzoat de metronidazol este următoarea:

Benzoil metronidazol	10,00 g
Agar-agar	0,18 g
Sirop aromatizant	25,00 g
Tween 80	0,01 g
Nipagin	0,07 g
Nipasol	0,03 g
Apă distilată la	100,00 g

Se prepară o dispersie apoasă a agarului prin dizolvare la cald, căreia i se adaugă și nipaesterii. Substanța medicamentoasă pulverizată la un grad de dispersie sub 20 μm se umectează cu Tween 80 și se adaugă în porțiuni soluția polimerului și siropul, triturînd pentru omogenizare.

Determinarea unor proprietăți fizico-chimice ale suspensiei apoase de benzoil metronidazol. S-au determinat unele proprietăți reologice ale suspensiei cu ajutorul unui aparat RHEOTEST (R.D.G.), la 20°±0,2. Curbele de curgere s-au obținut prin testarea probelor la viteza de forfecare crescătoare. Din reprezentarea forței de forfecare τ (dine. cm^{-2}) și D (sec^{-1}) în scală dublu logaritmică, interceptul dreptei cu axa τ conduce la valoarea η' = vîscozitatea aparentă și la unghiul dreptei față de axa τ notat cu α (fig. 2). Din reprezentarea grafică a valorilor D în funcție de τ, s-au obținut curbe de curgere (fig. 3) din care s-au definit η_∞ (cP) = viscozitatea la τ_{max}, care este panta porțiunii liniare a curbei la viteze de forfecare mari, care reprezintă viscozitatea newtoniană a sistemului nestructurat; η_0 (cP) = vîscozitatea în stare de structurare maximă care este panta curbei de curgere la axa τ și reprezintă vîscozitatea sistemului în starea de structurare maximă; $C_s = \eta_0 - \eta_\infty$ (cP) este diferența între panta din porțiunea inițială a curbei și porțiunea liniară a curbei, în cazul suspensiei;

$C_v = \eta_0 - \eta_\infty$ se referă la vehicul ; f (dine. cm^{-2}) este interceptul cu axa a porțiunii liniare a curbei extrapolate la viteză de forfecare zero, și reprezintă punctul de curgere al sistemului (18, 19).

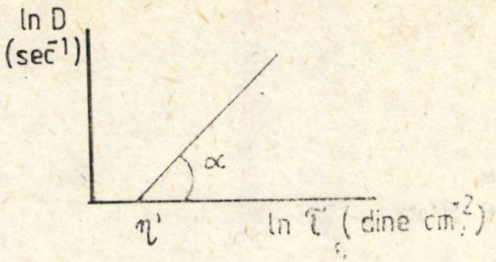


Fig. 2

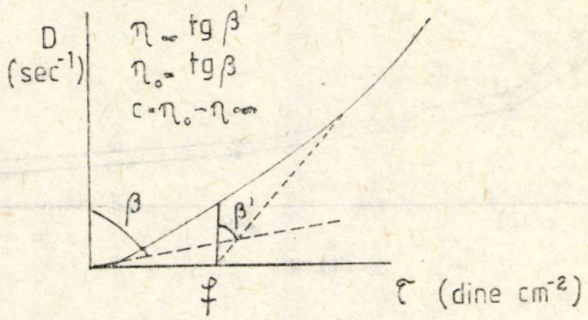


Fig. 3

Raportul de sedimentare H_u/H_0 s-a calculat prin împărțirea înălțimii sedimentului după un timp de păstrare a suspensiei în cilindri gradați, față de înălțimea sa inițială, după prepararea suspensiei.

Diametrul mediu al particulelor suspendate, $\bar{D}$ (μm), s-a evaluat microscopic, cu ajutorul unui microscop optic cu ocular etalonat. S-au citit cca 150 mărimi de particule, din 10 cîmpuri diferite și s-a făcut suma dimensiunii particulelor de diferite mărimi, care s-a împărțit la numărul de particule observate.

Evaluarea organoleptică a gustului suspensiei de benzoil metronidazol s-a făcut comparativ cu a unei suspensii de metronidazol, preparată cu aceiași excipienți. Testarea a fost făcută de 10 subiecți, care au acordat indivdual un calificativ pentru fiecare din probele administrate, dintr-o scară de indici de apreciere ; foarte neplăcut, neplăcut, acceptabil, plăcut.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În figura 4 sînt redate curbele concentrațiilor serice ale metronidazolului, după administrarea unor doze unice subcutanat, de fosfat de metronidazol și metronidazol, la șobolani. În tabelul I sînt redați parametrii biofarmaceutici ai metronidazolului, după administrarea unor doze unice de fosfat de metronidazol și metronidazol, în cantități echivalente la 50 mg metronidazol/kg, la șobolani, pe cale subcutanată.

Se constată că fosfatul de metronidazol, după absorbția în circulația sistemică, suferă hidroliza la metronidazol, substanța medicamentoasă activă biologic și evidențiată prin metoda de determinare cantitativă folosită, și urmează o cinetică asemănătoare dozei de metronidazol injectate subcutanat.

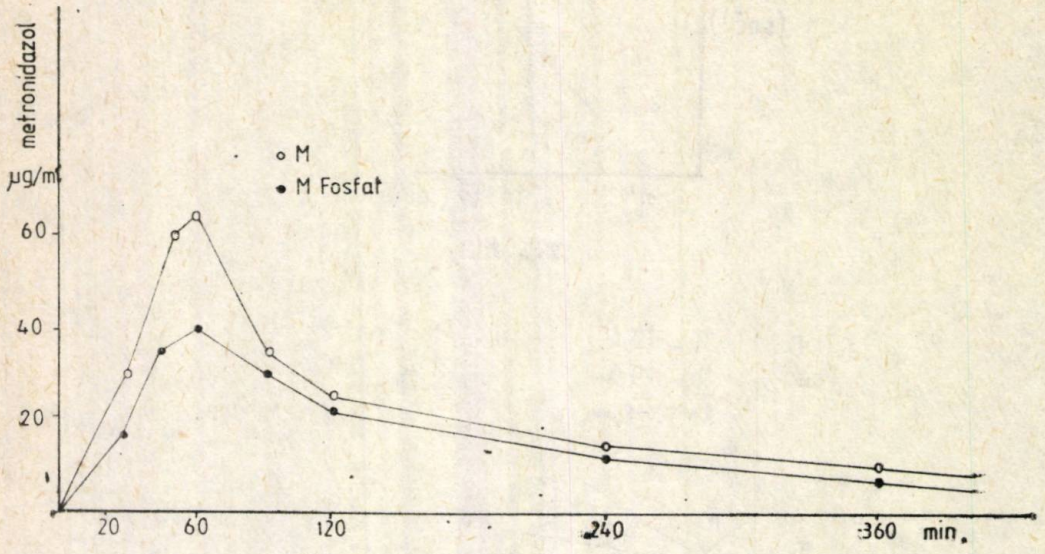


Fig. 4

Tabelul I

Parametrii biofarmaceutici ai metronidazolului după administrarea unor doze unice de metronidazol și de fosfat de metronidazol echivalente la 50 mg metronidazol/kg, pe cale subcutanată, în soluție apoasă de 10% dimetilformamidă, la șobolani

Substanța medicamentoasă	*Parametrii biofarmaceutici*									
	C_{max} (µg/ml)	t_{max} (ore)	k_a (l^{-1})	α (h^{-1})	β (h^{-1})	$t_{1/2}$ (ore)	ASC_0^{10} (µg·ml·h^{-1})	ASC_0^{∞} (µg·ml·h^{-1})	BD_{rel} (%)	
									0—10 ore	0—∞ ore
Metronidazol	63,3	0,5	8,6	2,14	0,18	3,75	122	143	100	100
Fosfat de metronidazol	17,5	1,5	1,24	0,61	0,14	4,95	96	126	78,7	88

Maximul concentrației medicamentoase în ser este 40 µm/ml și apare la o oră. După administrarea metronidazolului acest maxim apare mai repede și este mai mare decît după administrarea fosfatului de metronidazol. Constanta vitezei de absorbție k_a are o valoare mai mică după administrarea fosfatului de metronidazol în comparație cu metronidazolul. Această întîrziere în absorbție trebuie interpretată însă și ca un timp de apariție a metronidazolului din precursorul administrat, prin conversie enzimatică. Probabil că acest proces nu este instantaneu. Pe de altă parte, eliminarea metronidazolului administrat ca fosfat este cu ceva mai rapidă, decît a substanței originare ($t_1/_2$ =4,95 ore, după fosfat de metronidazol, comparativ cu $t_1/_2$=3,75 ore după metronidazol). Se constată, de asemenea, că aria de sub curbă (ASC) are valori mai

mici după administrarea fosfatului de metronidazol comparativ cu aceeași doză de metronidazol, diferențele fiind mai mari în primele 10 ore după administrarea dozelor. Acest fapt ar putea fi explicat printr-o eliminare mai rapidă a metronidazolului după administrarea fosfatului de metronidazol, probabil că în parte sub formă nehidrolizată. Biodisponibilitatea relativă a metronidazolului administrat ca fosfat de metronidazol, comparativ cu aceeași doză de metronidazol, este de 88%. Aceste observații arată că fosfatul de metronidazol suferă o conversie enzimatică rapidă la metronidazol, farmacocinetica sa fiind foarte asemănătoare cu a unei doze echivalente de metronidazol. Cercetări din literatură au arătat *in vitro* o conversie totală a fosfatului de metronidazol la metronidazol cu o cinetică de ordinul zero (13), precum și o biodisponibilitate asemănătoare. Studiul stabilității soluției apoase de fosfat de metronidazol a arătat că în perioada de 6 luni de păstrare, la temperatura camerei și la întuneric, scăderea concentrației este sub 5%. În literatură se consemnează de asemenea o stabilitate bună a esterilor fosforici (20).

Pe baza observațiilor experimentale farmacocinetice se poate concluziona că fosfatul de metronidazol ar putea fi utilizat în soluții injectabile, cu concentrații mari, necesare terapiei clinice.

În cazul benzoil metronidazolului s-a urmărit hidroliza *in vitro* în ser (fig. 5). Se constată că la 37°C scăderea concentrației inițiale a benzoil metronidazolului (0,2 mg/ml) are loc cu o viteză constantă, și se termină în aproximativ 8—10 ore. În condițiile administrării suspensiei *in vivo*, per oral, după absorbția precursorului medicamentos în circulația sitemică, este deci de așteptat să aibă loc conversia sa la metronidazol. În acest scop, sînt importante caracteristicile fizico-chimice ale particulelor și suspensiei. În tabelul II sînt redate unele proprietăți fizico-chimice ale suspensiei de benzoil metronidazol. Se constată că s-a realizat o suspensie floculată, cu o bună stabilitate fizică în timp, și cu un grad de dispersie stabil al particulelor substanței medicamentoase. Aceste proprietăți sînt o premisă a unor teste de disponibilitate și studiu a comportamentului *in vivo*. Testul de apreciere a gustului suspensiei a fost apreciat ca acceptabil de către lotul de degustători, comparativ cu suspensia de metronidazol.

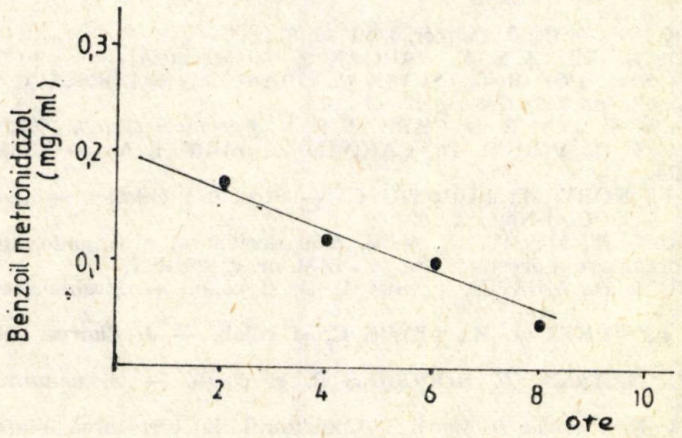


Fig. 5

În concluzie, s-au sintetizat doi precursori medicamentoși ai metronidazolului, esterul fosforic sare dipotasică foarte ușor solubil în apă și esterul benzoic, cu o solubilitate mică în apă. Cercetările farmacocinetice după o doză unică, la șobolani, arată că a avut loc bioconversia fosfatului de metronidazol la metronidazol, farmacocinetica acestuia fiind asemănătoare cu a unei doze echivalente de metronidazol, conformă cu un model bicompartimentat.

Tabelul II

Caracteristici fizico-chimice ale suspensiei cu benzoil metronidazol

	η' (cP)	α	η_∞ (cP)	Cs (cP)	Cv (cP)	Cs–Cv (cP)	f (din. cm^{-2})	Hu/Ho	$\overline{D}$ (μm)
Vehicul	480	54°	25		200		95	—	—
Suspensia	900	60°	40	380		180	120	0,85	15
Suspensia stocată 6 luni	1100	62°	38	400		200	110	0,80	17

η' = vîscozitate aparentă
α = unghiul cu abscisa
η_∞ = vîscozitate în stare de structurare maximă
η_0 = vîscozitate în stare de structurare minimă
Cs = $\eta_0 - \eta_\infty$ în cazul suspensiei
Cv = $\eta_0 - \eta_\infty$ în cazul vehiculului
f = punct de curgere
Hu/Ho = raportul de sedimentare
$\overline{D}$ = diametrul mediu al particulelor

Studiul *in vitro* a hidrolizei serice a benzoil metronidazolului arată o dispariție a esterului din ser conform unei cinetici de ordinul zero. Cercetările de preformulare asupra soluției injectabile a fosfatului de metronidazol și a suspensiei orale de benzoilmetronidazol, atestă posibilitatea extinderii viitoare a cercetării acestor preparate *in vivo*.

BIBLIOGRAFIE

1. GOLDMAN P. — *New Engl. J. Med.*, 1980, *303*, 1 212.
2. BARTLETT J. G. — *Lancet*, 1982, *2*, 478.
3. ASQUITH J. C. și colab. — *Br. J. Radiol.*, 1974, *47*, 474.
4. URTASUN R. C., RABIN H. R., PARTINGTON J. — *Surgery*, 1983, *93*, part. 2, 145.
5. TANNOCK I. F. — *Br. J. Cancer*, 1980, *42*, 871.
6. POP R. D., LEUCUȚA S. E., CARDAN E. — *Farmacia (Buc.)*, 1985, *33*, 1.
7. LEUCUȚA S. E., POP R. D. CADAN E., GRASU A., BALOESCU C. — Practica farmaceutică, C-da 8535, 1984, p. 65—71.
8. LEUCUȚA S. E., POP R. D. CARDAN E. — *Farmacia (Buc.)*, 1985, *35*, 7.
9. LEUCUȚA S. E., POP R. D., CARDAN E., SURCEL V. — Clujul medical, 1984, 57, 274.
10. DANCIU F., KORY M., LUPUTIU G. — Structură chimică — biodisponibilitate, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1983.
11. POSTESCU I. D., MUSTEA I. V. — Nou derivat al nitroimidazolului și procedeu de preparare a acestuia, Brevet OSIM, nr. 64128/1977.
12. POSTESCU I. D., MUSTEA I., SUCIU D. și colab. — *Strahlentherapie*, 1979, *155*, 358.
13. CHO M. J., KURTZ R. R., LEWIS C. și colab. — *J. Pharm. Sci.*, 1982, *71*, 410.
14. COSAR C., CRIȘAN C., HORCLOIS R. și colab. — *Arzneimittelforschung*, 1966, *1*, 23.
15. * * * — A 55-a parte a temei : „Contribuții la cercetarea biofarmaceutică a medicamentelor (sub red. S. E. Leucuța și colab.).
16. WELLING P. G., MONRO A. M. — *Arzneimittelforschung*, 1972, *22*, 2 128.

17. LEUCUȚA S. E., POP R. D. — Farmacocinetica, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1981.
18. POPOVICI A., TÖKES B., PAPP I., SUCIU G. — Reologia formelor farmaceutice, Edit. Medicală, București, 1985.
19. CARAMELLA C., COLUMBO P., CONTE V., LA MANNA A. — Farmaco, 1974, 29, 318.
20. BUNTON C. A. — *J. Chem. Educ.*, 45, 21, 1968.

Articol intrat în redacție la 9.VII.1986

Indicele de clasificare : 615.32:547.814.5

SUMMARY

Doina Ghiran, S. E. Leucuța, I. D. Postescu — PHARMACOKINETIC AND PREFORMULATON STUDIES ON CERTAIN BIOREVERSIBLE PRECURSSORS OF METRONIDAZOLE

Two medicinal precurssors of metronidazole were synthetised : the di- potassium salt of the phosphoric ester, highly soluble in water, and the benzoic ester, which has a very low water-solubility. Metronidazole phosphate administered as a bolus by the subcutaneous pathway undergoes enzymatic conversion to metronidazole, the pharmacokinetics of which have been detailed with the aid of a biocompartimental model for which characteristic constants were calculated. Pharmacokinetics of metrodinazole phosphate is very similar to that of an equivalent dose of metronidazole. Hydrolysis of benzoyl-metronidazole in vitro at 37°C demonstrated a rate of disappearence according to a zero-order kinetics. An injectable solution was prepared, containing metronidazole phosphate, and a flocculated aqueous suspension for oral administration containing benzoly metronidazole. Preformulation studies on the suspension have demonstrated that it has physicochemical characteristics which allow future studies to be carried out in vivo.

РЕЗЮМЕ

Дойна Киран, С. Е. Леукуца, И. Д. Постеску – ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ И ПРЕДФОРМУЛИРОВОЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СВЯЗИ С НЕКОТОРЫМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ ОБРАТИМЫМИ ПРЕДШЕСТВЕННИКАМИ МЕТРОНИДАЗОЛА

Авторы произвели синтез двух лекарственных предшественников метронидазола, а именно: фосфорный эфир двухкалиевой соли, очень легко растворимый в воде, и беизойный эфир, весьма трудно растворимый в воде. Фосфат метронидазола, введенный подкожно белым крысам в единой дозе, претерпевает энзиматическую конверсию метронидазола, фармакокинетика которого была описана двухразделенной моделью, в отношении которой были вычислены её характерные константы.

Фармакокинетика фосфора метронидазола аналогична с фармакокинетикой равноценной дозы метронидазола. Гидролиз беизоил-метронидазола *ин витро*, в сыворотке крови и при температуре 37°С, показал его исчезновение согласно кинетике нулевого порядка. Авторы приготовили годный для инъекций раствор фосфора метронидазола и водную флокулирующую взвесь для перорального потребления, содержащую бензоил-метронидазол. Предформулировочные исследования этой взвеси доказали, что она обладает физико-химическими особенностями, соответствующими её назначению в виду будущих исследований *ин виво*.

REFERAT

OMOLOGIA ÎNTRE P-GLICOPROTEINA ŞI O PROTEINĂ BACTERIANĂ TRANSPORTOARE DE HEMOLIZINĂ SUGEREAZĂ UN MODEL PENTRU REZISTENŢA MULTIDROG. **James H. Gerloch**, Nature, 1986, 324, 6 096, 485

P-glicoproteina este o glicoproteină de membrană cu Mr 170 kilodaltoni (KD). S-a observat că ea apare într-o mare varietate de linii celulare — care afişează rezistenţă pleiotropică la droguri neînrudite — printre care şi celule tumorale rezistente la un număr însemnat de medicamente.

Autorii acestui articol descoperă omologie puternică între P-glicoproteina şi proteina Hly B, o proteină de membrană a bacteriei *Escherichia Coli* : Hly B este o proteină cu Mr=107 KD, implicată în exportul hemolizinei. Profilele hidropatice ale celor două proteine sînt similare şi relevă o regiune întinsă transmembranară asemănătoare acelora găsite la proteinele formatoare de pori de membrană. Regiunea C — terminală a P-glicoproteinei şi proteina Hly B conţin secvenţe omologe domeniilor ligande de nucleotide aparţinînd unui grup de proteine bacteriene înrudite, ligande de ATP.

Omologia între secvenţele de aminoacizi ale celor două proteine este mică, în schimb la ambele a fost detectată o porţiune hidrofobică mare care conţine şase segmente potenţial transmembranare aranjate în perechi, iar hidrofobicităţile şi momentele hidrofobice ale celor două proteine sînt consistente cu funcţiile formatoare de canal.

Autorii articolului propun un model pentru rezistenţa multidrog (întîlnită, de exemplu, la anumite linii celulare tumorale), în care P-glicoproteina funcţionează ca o pompă exportatoare energodependentă, care reduce nivelele intracelulare ale medicamentelor.

Necesitatea ca P-glicoproteina să recunoască medicamente este eliminată dacă ea exportă o proteină (care leagă medicamentul) şi nu medicamentul însuşi. În aceste condiţii este suficient ca ea să recunoască proteina respectivă. Dacă P+glicoproteina funcţionează în rezistenţa multidrog într-o manieră asemănătoare aceleia în care funcţionează Hly B în exportul hemolizinei, ele au aspecte comune. Astfel :

— cînd inhibitori ai producţiei de energie (KCN, 2-4-dinitrofenolul, azida de sodiu) sînt adăugate celulelor în absenţa surselor de energie ca glucoza, acumularea medicamentelor intracelular este crescută net. Acest efect este mai mare la celulele multidrog rezistente şi, cînd glucoza reapare, concentraţia intracelulară a medicamentelor scade mult mai rapid decît în celulele sensibile la acţiunea medicamentelor.

O pompă dependentă de energie care elimină în exterior medicamente a fost sugerată ca mecanism al rezistenţei multidrog.

P-glicoproteina, arată autorii, ar putea fi o proteină care exportă în mod normal molecule mari şi numai amplificarea genetică să ducă la exacerbarea transportului transmembranar, creînd condiţiile apariţiei rezistenţei la medicamente.

De asemenea, arată autorii, o omologie atît de puternică între o proteină bacteriană (Hly B) şi una enkariotică (P-glicoproteina) pune probleme de evoluţie. Este posibil, propun autorii, ca *E. coli* să fi achiziţionat cel puţin o parte din gena Hlg B dintr-o genă Hly B de mamifer.

Văduva Gabriela

Caracterul reducător al hidroxizinei față de oxidanți anorganici

V. Nacea, L. Dinicuț

Laboratorul de Chimie Anorganică, Facultate de Farmacie, I.M.F. București

REZUMAT *În continuarea cercetărilor referitoare la hidroxizină — medicament tranchilizant cu largi aplicații terapeutice, s-a studiat comportarea redox a diclorhidratului hidroxizinei față de $KMnO_4$.*

S-a urmărit spectrofotometric influența concentrației reactanților, fracției molare a medicamentului, mediului de reacție și temperaturii.

S-a confirmat pe de o parte caracterul reducător al diclorhidratului hidroxizinei față de oxidantul menționat, pe de altă parte potențarea efectului reducător în condiții de reacție apropiate de cele corespunzătoare mediului biologic.

Hydroxyzinum
Antioxidanți

Fenomenul de oxido-reducere, bazat pe schimbul de electroni între partenerii : oxidant și reducător, guvernează nu numai o multitudine de reacții de natură anorganică, ci și reacții mai complexe cum sînt cele de natură biologică.

În ultimii ani o serie de publicații tratează pe larg chimia anorganică a proceselor biologice (1, 2).

În continuarea cercetării reactivității chimice a hidroxizinei (3—6), am studiat spectrofotometric reacția sa cu $KMnO_4$ și influența concentrației, fracției molare, pH-ului și temperaturii asupra acesteia.

Sistemul redox hidroxizină/$KMnO_4$

Prepararea soluțiilor : soluțiile de concentrații 10^{-3}_M, 10^{-4}_M și 10^{-5}_M de $KMnO_4$ și de hidroxizină diclorhidrat au fost preparate prin dizolvarea în apă a cantităților corespunzătoare cîntărite la balanța analitică, luînd măsurile de precauție corespunzătoare (în cazul $KMnO_4$).

Prepararea amestecului tampon : amestecul tampon a fost preparat din soluții 0,2 M de KH_2PO_4 și NaOH. S-au folosit 50 ml soluție KH_2PO_4 și 39,34 ml soluție 0,2 M NaOH, obținînd astfel un amestec tampon cu pH=7,3 (după Clark și Lubs).

1. La un aparat SPEKORD UV. — VIS cu înregistrare automată s-a înregistrat spectrul de absorbție al unei soluții apoase de $KMnO_4$ 10^{-3}_M.S-a observat că acest compus, datorită prezenței anionului colorat

MnO_4^- prezintă în domeniul vizibil o curbă de absorbție cu trei maxime cu valori mari ale coeficientului de extincție, între 520 și 565 nm.

În prezența unei soluții echimoleculare de clorhidrat de hidroxizină în mediu apos, curba de absorbție a permanganatului s-a modificat total, apărînd un spectru larg cu un maxim de absorbție situat la 375 nm. Apariția acestei benzi de absorbție la această lungime de undă a fost un prim indiciu calitativ al procesului redox ce are loc între clorhidratul de hidroxizină și $KMnO_4$.

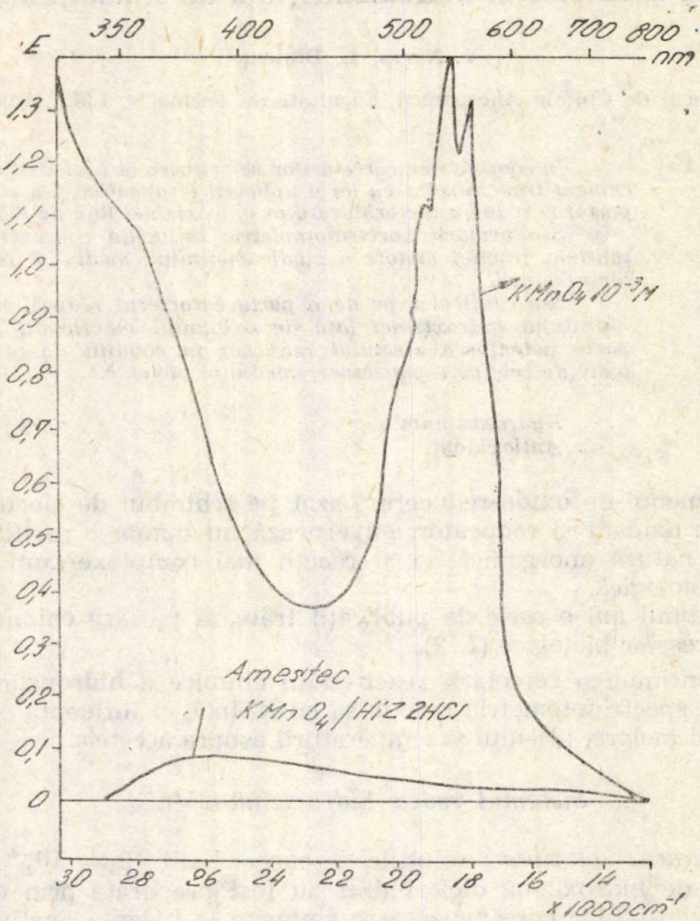


Fig. 1

2. S-au prepart cinci amestecuri de soluții izomoleculare de concentrație 10^{-3}M de hidroxizină și permanganat, corespunzătoare la diferite fracții molare ale hidroxizinei. Am considerat concentrația produsului de reducere a $KMnO_4$ invers proporțională cu absorbția amestecului de reacție la 375 nm. Reprezentarea grafică a valorilor extincției la 375 nm pentru diferitele amestecuri la pH=5 (creat de reactanți) și t=20°C, a condus la o curbă ascendentă. La soluții de aceeași molecularitate și aceleași fracții molare s-au adăugat cîte 2 ml amestec tampon și s-au încălzit la 37°C; s-au înregistrat de asemenea valorile extincțiilor la 375 nm.

Reprezentarea grafică a valorilor extincției, în acest caz, a prezentat o dependență lineară.

Aceasta ne-a permis să conchidem că fenomenul are loc cu o viteză mai mare la pH=7,3 și t=37°C, iar concentrații maxime de produși de reducere s-au obținut peste valoarea 0,7 a fracției molare.

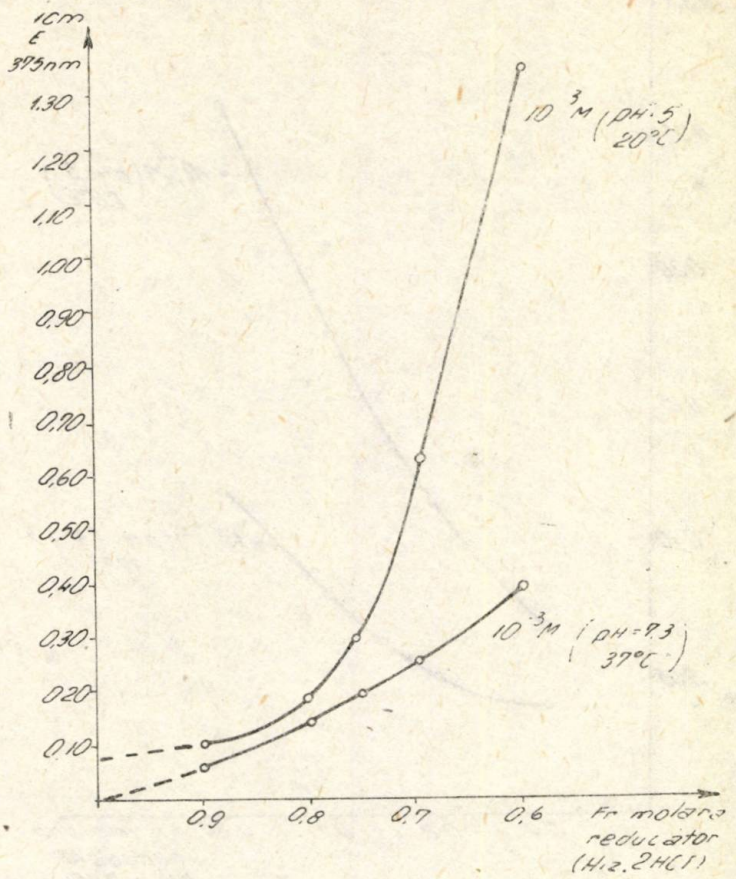


Fig. 2

3. Am repetat determinările în cazul unor soluții de molecularitate 10^{-4}M, în condițiile create de reactanți și în condițiile aproapiate de mediul biologic (pH=7,3; t=37°C).

S-au obținut rezultate similare.

4. Odată demonstrat calitativ procesul redox dintre hidroxizină și permanganat, ne-am pus problema limitei de concentrație pînă la care procesul are loc. În acest scop am preparat soluții de concentrație 10^{-5}M, acestea corespunzînd unor concentrații de hidroxizină în jurul valorii de 5 mcg/ml. Citirile la 375 nm (Mn^{2+}) nu au mai permis punerea în evidență a fenomenului decît în cazul amestecului corespunzător fracției molare în raport cu hidroxizină egală 0,600 (oxidantul în exces).

5. Urmărind procesul în domeniul ultraviolet, pentru soluții de molecularitate 10^{-5}M, determinările au scos în evidență următoarele: extin-

cțiile corespunzătoare amestecurilor tamponate și încălzite la 37°C au fost net superioare celor obținute pe amestecuri similare la pH=5 și t=20°C; admițînd că absorbția în domeniul ultraviolet se datorește eventualului

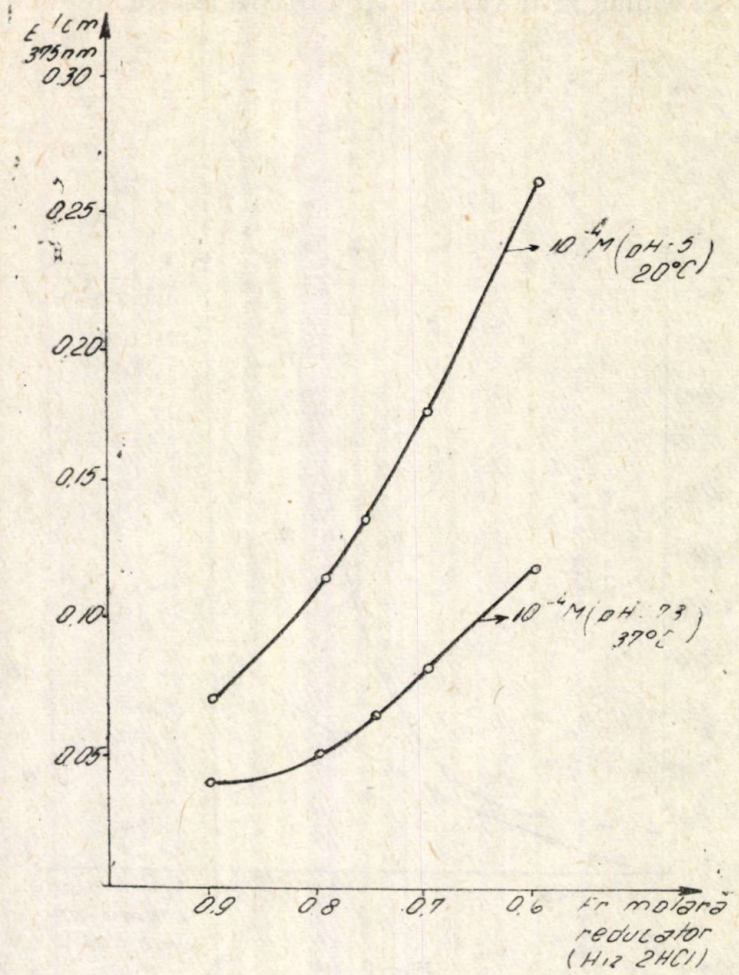


Fig. 3

produs de oxidare al hidroxizinei se poate vedea că : cantitățile produsului de oxidare sînt mai mari la pH=7,3 și t=37°C.

Reprezentarea grafică a mai scos în evidență obținerea unui maxim al curbei corespunzător fracției molare în raport cu medicamentul egală cu 0,80.

CONCLUZII

S-a studiat spectrofotometric reacția dintre $KMnO_4$ și diclorhidratul hidroxizinei în mediu apos, la trei domenii de concentrație : 10^{-3}M, 10^{-4}M, 10^{-5}M, în condițiile create de reactanți și comparativ în prezența unui amestec tampon cu pH=7,3 la t=37°C.

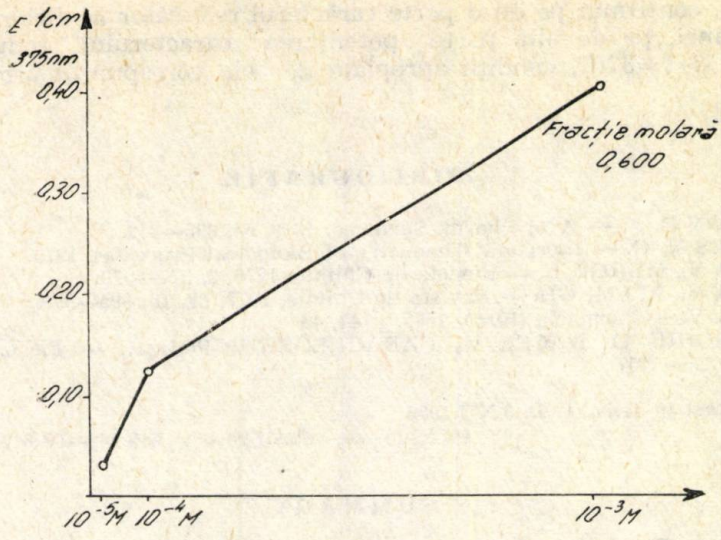

E 1cm
375nm
0,40
0,30
0,20
0,10
Fracție molară
0,600
10⁻⁵M
10⁻⁴M
10⁻³M

Fig. 4

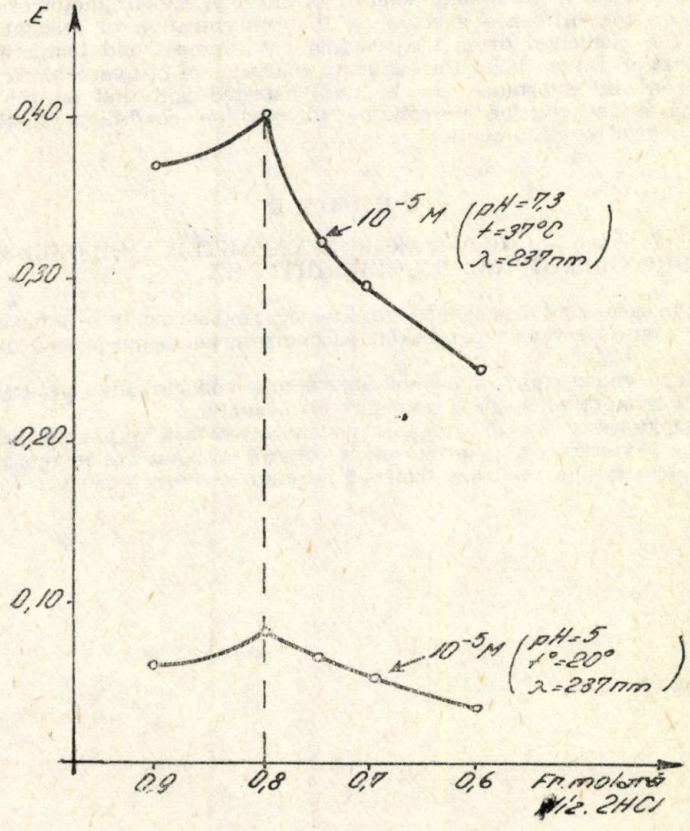

E
0,40
0,30
0,20
0,10
10⁻⁵M (pH=7,3 t=37°C λ=237nm)
10⁻⁵M (pH=5 t°=20° λ=237nm)
0,9
0,8
0,7
0,6
Fr. molară
½. 2HCl

Fig. 5

S-a confirmat pe de o parte caracterul reducător al diclorhidratului hidroxizinei, pe de altă parte potențarea caracterului reducător la pH=7,3 și t=37°C, condiții apropiate de cele corespunzătoare mediului biologic.

BIBLIOGRAFIE

1. PERSSON B. A. — Acta Pharm. Suedicae, 1968, 54, 335—342.
2. HUGHES N. G. — Inorganic Chemistry of Biological Processes, 1975.
3. NACEA V., MURGU L. — Revista de Chimie, 1978, 2, 577—579.
4. NACEA V., ZUCHI GH. — Revista de Chimie, 1977, 28, 10, 995—996.
5. NACEA V. — Farmacia (Buc.), 1985, 1, 41, 46.
6. GHEORGHIU C., NACEA V., CARAGHEORGHIOPOL A. — Farmacia (Buc.), 1984, 4, 229—231.

Articol intrat în redacție la 3.XII.1986

Indicele de clasificare : 615.782—06:612.015.11—064

SUMMARY

V. Nacea, L. Dinicuț — THE REDUCING CHARACTER OF HYDROXIZINE AGAINST INORGANIC OXIDANTS

Continuing the series of studies on hydroxizine — a tranquillizer medicinal drug extensively applied in therapy, the redox behaviour was studied, of hydroxiziune di-hydrochloric compound against $KMnO_4$. A spectrophotomeric study was carried out on the influence exerted by the concentration of reagents, the molar fraction of the medicinal drug, the reaction environment and temperature. It was confirmed that on the on hand the reducing character of di-hydrochloric hydroxizine against the oxidant substance can be demonstrated and that on the other hand the reducing effect can be potentiated in reaction conditions similar to those found in biological environments.

РЕЗЮМЕ

В. Нача, Л. Диникуц — СОКРАЩАЮЩИЙ ХАРАКТЕР ХИДРОКСИЗИНА СРАВНИТЕЛЬНО ОРГАНИЧЕСКИХ ОКИСЛИТЕЛЯХ

В продолжении исследований относительно хидроксизину — успакающее лекарство широкого применения в терапевтики, рассмотрено поведение редокс-диклоргидрата гидроксизина к $KMnO_4$.

Рассмотрено спектрофотометрически влияние концентрации реактантов, молярной фракции лекарства, среды и температуры реакции.

Подтвердился с одной стороны востановительный характер дихлоргидрата гидроксизина к указанному укислителю, с другой стороны потенцирование востановительного эффекта при условиях блиской реакции к соответственным биологической среды.

Caracterizarea unor fracțiuni extractive din Calendulae Flos utilizate în dermopreparate

Eliza Gafițanu, Ioana Matei, Iuliana Popovici,
Doina Lazăr, I. M. Lazăr, Silvia Drăghici

REZUMAT

Cercetarea întreprinsă a urmărit realizarea unor soluții extractive bogate în principii active din florile de Calendulae officinalis *în condiții de extracție avantajoase.*

În funcție de compoziția chimică a produsului vegetal, s-au studiat condițiile de extracție prin diferite metode : extracție selectivă și succesivă cu solvenți lipofili și hidrofili, prin recirculare solventului, refluxare : macerare și digestie.

Eficiența solvenților și a procedelor de extracție aplicate a fost apreciată cantitativ prin determinarea conținutului în flavone, exprimate în rutozid și în caroteni, exprimați în β-caroten.

Plante medicinale *Extracte*
Flavone *Unguente*
Loțiuni

Florile de *Calendulae officinalis* (gălbenele) reprezintă un produs vegetal cu o compoziție chimică complexă, ceea ce determină multiple acțiuni terapeutice (3, 5, 6, 9, 10—12, 14, 15, 17—20).

Produsul vegetal prelucrat prin extracție este utilizat pentru obținerea unor dermopreparate : loțiuni, emulsii, unguente, pudre, pentru acțiunea antiinflamatoare, decongestionantă, cicatrizantă și antimicrobiană, făcînd obiectul a numeroase studii (1, 2, 4, 7, 8, 13, 16).

Ținînd seama de compoziția chimică a florilor de gălbenele, în cercetarea întreprinsă s-a urmărit realizarea unor soluții extractive bogate în principii active, în condiții de extracție avantajoase. În acest scop s-au ales solvenți de extracție selectivi — pentru fracțiunea hidrofilă (flavone, glicozidele acidului oleanolic, calendulozidele A-H, alcooli terpenici : arnidiol și faradiol) și cea lipofilă (caroteni ulei volantil, esteri ai colesterolului cu acizi grași). Solvenții utilizați au fost : alcoolul, propilenglicolul, cloroformul, eterul de petrol, uleiul de floarea soarelui și parafina lichidă.

Primul procedeu aplicat se bazează pe principiul extracției selective și succesive cu diferiți solvenți, începînd cu cel mai lipofil. Acest procedeu, frecvent utilizat în analiza farmacognostică, se realizează la cald și permite o separare a principiilor active din produsul supus extracției în funcție de caracterul lipofil sau hidrofil al acestora. Pentru extracție s-au folosit : eter de petrol, cloroform și alcool. Epuizarea produsului vegetal cu eter de petrol și apoi cu cloroform s-a realizat cu ajutorul aparatului Soxhlet.

Pentru extracția cu alcool s-a recurs la refluxare, din cauza punctului de fierbere ridicat al soluției extractive alcoolice, față de soluția cloroformică și eter-petrolică.

Capacitatea de extracție a solvenților a fost apreciată prin determinarea cantitativă a carotenilor extrași în eter de petrol și cloroform și a flavonelor extrase în alcool.

Procedeul de extracție efectuat este prezentat în fig. 1 iar rezultatele determinărilor cantitative în tabelul I.

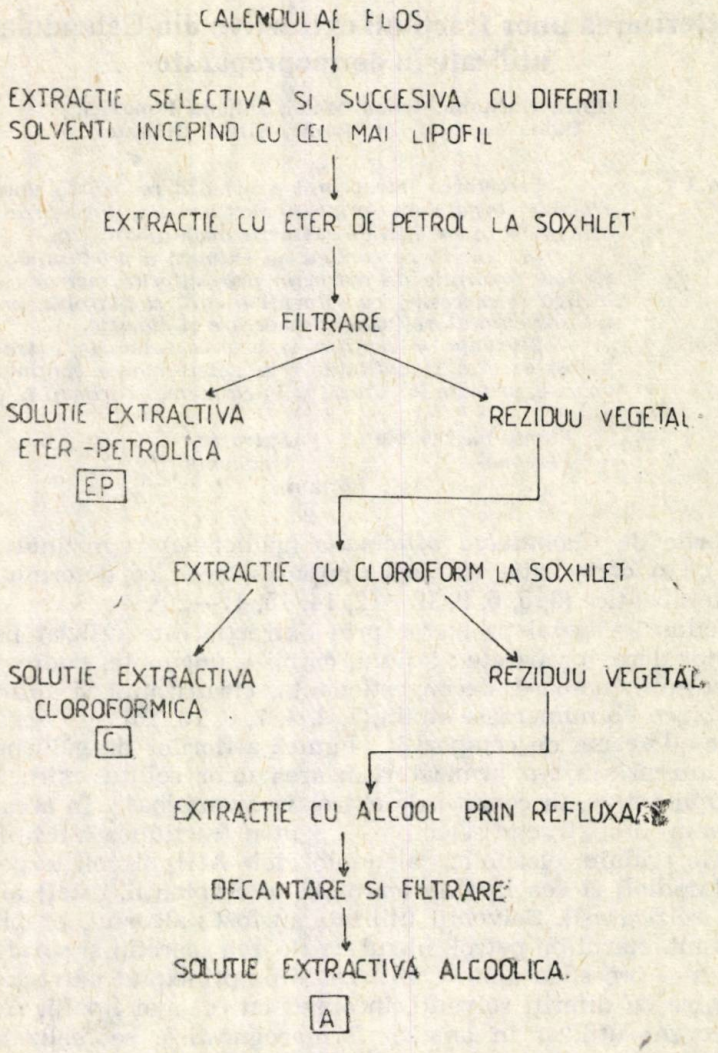


Fig. 1. — Schema de extracție selectivă și succesivă a produsului „Calendulae flos" cu diferiți solvenți, începînd cu cel mai lipofil.

Extracție la Soxhlet, cu recircularea solventului este economică din punctul de vedere al cantităților de eter de petrol și cloroform utilizate. Eterul de petrol a extras în mare parte carotenii (0,1047 gW), încît urmă-

toarea serie de extracție cu cloroform nu este decît parțial justificată (0,0169 g%). Dacă extracția avea loc inițial în cloroform, acest solvent conducea la randament mai mare decît în cazul eterului de petrol, folosit ulterior, deoarece carotenii sînt ușor solubili în ambii solvenți.

Macerarea este unul din procedeele aplicate pe scară largă pentru obținerea extractelor cu utilizare în dermopreparate; operația de extracție se realizează la temperatura camerei, ceea ce menajează principiile active.

Tabelul I

Conținutul în flavone și caroteni la extracția selectivă și succesivă a produsului *Calendulae flos* cu diferiți solvenți, începînd cu cel mai lipofil

Notația din fig. 1	*Solvent*	*Raport drog/solvent*	*Metoda de extracție*	*Durata de extracție*	*Conținut g% în:*	
					flavonoide exprimate în rutozid	*caroteni exprimați în β — caroten*
EP	Eter de petrol	10θ/q.s.	extracție la Soxhlet	pînă la epuizare		0,1047
C	Cloroform	~100/q.s.	extracție la Soxhlet	pînă la epuizare		0,0169
A	Alcool	~100/1000	refluxare		0,35	

În scopul realizării unor randamente superioare, s-a ales raportul drog/solvent de 5/100 și au fost respectate condițiile prevăzute la „Macerarea repetată" din monografia „Tincturae" (21).

Pe baza rezultatelor obținute în prima serie de extracții s-a ales ca solvent cloroformul și alcoolul, urmînd ca în faza următoare, același produs vegetal să fie extras prin macerare simplă cu propilenglicol și respectiv cu ulei de floarea soarelui.

Procedeul de extracție aplicat este prezentat în fig. 2 iar rezultatele determinărilor cantitative în tabelul II.

Tabelul II

Conținutul în flavone și caroteni la extracția produsului *Calendulae flos* prin macerare

Notația din fig. 2	*Solvent*	*Raport drog/solvent*	*Conținut g% în:*	
			flavone exprimate în rutozid	*caroteni exprimați în β-caroten*
A_1	Alcool	10/100	0,2916	
A_2	Alcool	10/100	0,2563	
C_1	Cloroform	10/100		0,0845
C_2	Cloroform	10/100		0,0607
U	Ulei de floarea soarelui	10/100		0,0209
P	Propilenglicol	10/100	0,02071	0,0363

Se constată că randamentul în flavone este asemănător la cele două soluții alcoolice, demonstrînd utilitatea macerării duble și capacitatea mare de extracție a alcoolului (0,2916 g%; 0,2563 g%, față de 0,02071 g% cît extrage propilenglicolul).

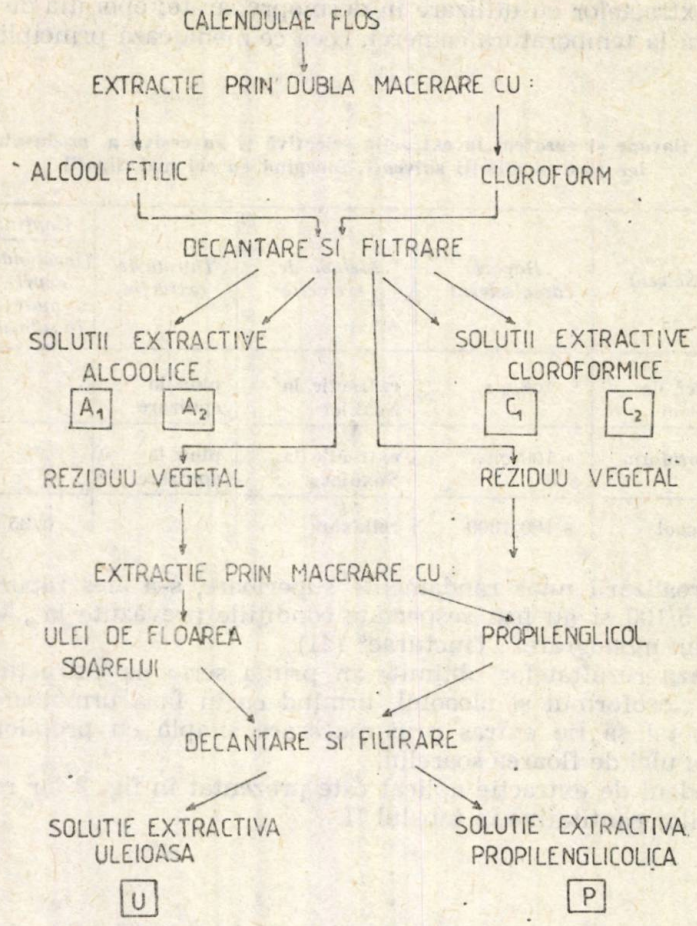


Fig. 2. — Schema de extracție a produsului „*Calendulae flos*" prin macerare.

Utilizarea cloroformului pentru extracția carotenilor este ilustrată de randamentele obținute (0,0845 g% la prima macerare și 0,0607 g% la cea de a doua macerare).

Poate fi evidențiat, însă, propilenglicolul, care extrage atît carotenii, cît și flavonele, dar cu randamente mai mici decît ceilalți solvenți.

Prin reunirea maceratelor alcoolice cu cele de ulei de floarea soarelui și respectiv, maceratelor cloroformice cu maceratul în propilenglicol, urmată de îndepărtarea solvenților volatili din amestecurile menționate, se obțin soluții extractive bogate în principii active cu caracter hidrofil și lipofil.

În condițiile descrise, metoda macerării realizează preparate extractive îmbogățite în ambele fracțiuni.

Digestia a stat la baza altor serii de extracții, care s-a desfășurat conform schemei din fig. 3, rezultatele determinărilor cantitative fiind prezentate în tabelul III.

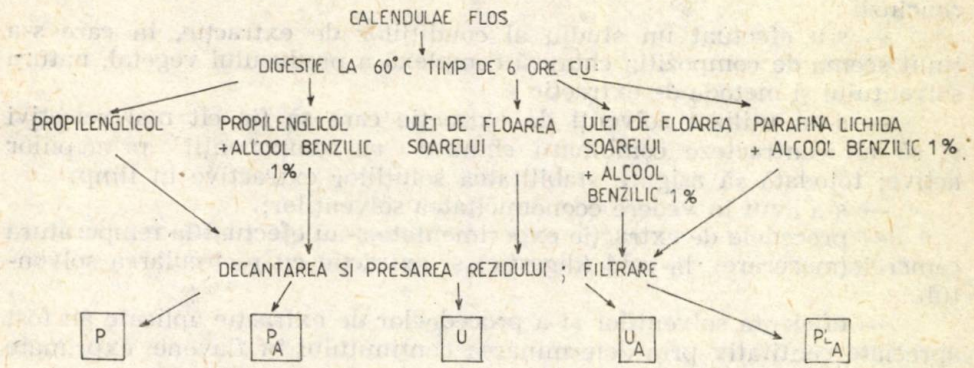


Fig. 3. — Schema de extracție a produsului *„Calendulae flos"* prin digestie

Tabelul III

Conținutul în flavone și caroteni la extracția produsului *Calendulae flos* prin digestie

Notația din fig. 3	*Solvent*	*Raport drog/solvent*	*Conținutul g% în:*	
			flavone exprimate în rutozid	*caroteni exprimați în β-caroten*
P	Propilenglicol	10/100	0,015	0,0403
P_A	Propilenglicol + + alcool benzilic	10/100	0,0194	0,0472
U	Ulei de floarea soarelui	10/100		0,0116
U_A	Ulei de floarea soarelui	10/100		0,0124
PL_A	Parafină lichidă + + alcool benzilic 1%	10/100		0,0108

Adaosul de alcool benzilic la propilenglicol și ulei de floarea soarelui este în favoarea conservării și în același timp mărește randamentul de extracție, atît pentru flavone, cît și pentru caroteni.

Uleiul de parafină utilizat într-o singură variantă de extracție, cu alcool benzilic, realizează un conținut scăzut în caroteni (0,0108 g%).

În cazul digestiilor cu propilenglicol se observă o creștere a conținutului în caroteni (0,0472 g%) față de procedeul prin macerare (0,0363 g%), dar nu și a conținutului în flavone (0,02071 g% la macerat și 0,0194 g% la degestie).

CONCLUZII

În urma analizei de ansamblu a rezultatelor înregistrate în cursul cercetărilor întreprinse pentru realizarea unor soluții extractive din florile de *Calendula officinalis*, bogate în principii active, care să fie valorificate prin introducerea lor în dermopreparate se desprind următoarele concluzii :

— s-a efectuat un studiu al condițiilor de extracție, în care s-a ținut seama de compoziția chimică complexă a produsului vegetal, natura solventului și metoda de extracție ;

— s-au utilizat solvenți de extracție care să fie cît mai selectivi și să nu contracteze combinații chimice cu componenții principiilor active; totodată să asigure stabilitatea soluțiilor extractive în timp;

— s-a avut în vedere economicitatea solvenților;

— procedele de extracție experimentate s-au efectuat la temperatura camerei (macerare), la cald (digestie) și extracție cu recircularea solventului ;

— eficiența solvenților și a procedeelor de extracție aplicate au fost apreciate cantitativ prin determinarea conținutului în flavone, exprimate în rutozid și a conținutului în caroteni, exprimat în β-caroten ;

— a fost verificată eficiența unor procedee de extracție (macerarea și digestia) și a solvenților : cloroform, alcool și propilenglicol, recomandînd procedeul de extracție prin macerare.

BIBLIOGRAFIE

1. AUSTER F., SCHÄEFFER J. — Arzneipflanzen, p. 1—20, Thieme, Leipzig, 1958.
2. ALEXANDRIU PEIULESCU MARIA, POPESCU H. — Plante medicinale în terapeutica modernă, p. 74—76, Ed. Ceres, București, 1978.
3. BENIGNI CAPRA — Plante medicinale, vol. 1, p. 185, Ed. Inverni e della Beffa, Milano, 1962.
4. CONSTANTINESCU D. Gr., CONSTANTINESCU C. — Formular fitoterapeutic, 1958
5. FRIEDRICH H. — Arch. Pharm. 1962, 1, 59
6. FRIEDRICH H. — Arch. Pharm., 1962, 6, 464
7. FELKOVA M., JANECKOWA M. — Ceskoslov, Farm., 1957, 6, 577
8. FAULI TRILLO C., IGLESIAS ANGLES J. — Rev. Real Acad. Farm. Barcelona, 1978, 14, 5—38
9. GRACZA L., SZASK K. — Acta Pharm. Hung., 1968, 38, 118—125
10. GOODWIN W. — Biochem. J., 1954, 58, 90.
11. GESSNER O. — D. Gift. U. Heilpfl. V., Mitteleuropa, Verlag Winter, Heidelberg, 1953, 2, 409
12. GORA J., KALBEMBA D., KUROWSKA A. — Chemical substances from inflorescences of Arnica montana and Calendula officinalis L. soluble in izipropyl myristate and propylene glycol, Herba Hungarica, 1980, 19, 1, 165—171.
13. HEINICKE C. — Handbuch d. Ham Arzneiwirkungslehre p. 138, Verlag Dr. W. Schwabe Leipzig, 3, Aufl., 1922.
14. KROEBER L. — Das neuzeitliche kräterbuch. band II, p. 279.
15. KASPROZYKOWNA L. — Prace glovonego Inst. Chem. Przemyslowej, p. 39, Warszawa, 1951.
16. LIST P. H., HÖRHAMMER L. — Hagers Handbuch der Phermazeutischen Praxis, band VI, Springer Verlag, Berlin, 1972
17. MADAUSZ G. — Lehrbuch der biologische Heilmittel, p. 778, Ed. G. Thieme, Leipzig, 1938.
18. ZIMMERMANN F. — Helv. Chim. Acta, 1946, 29, 1455
19. ZECHMEISTER L., CHOLNOCKY L. — Z. Piysiol. Chem., 1932, 26, 208.

20. WINTERSTEIN H., STERN K. — Z. Physiol. Chem., 1931, 199, 64
21. * * * — Farmacopeea Română, ed. a IX-a, Edit. Medicală, Bucureşti, 1976.

Articol intrat în redacţie la 13.XI.1987
Indicele de clasificare : 615.32:615.415.7:547.814.5

SUMMARY

Eliza Gafiţeanu, Ioana Matei, Iuliana Popovici, Doina Lazăr, M. I. Lazăr, Silvia Drăghici — CHARACTERIZATION OF EXTRACTIVE FRACTIONS FROM CALENDULAE FLOS, EMPLOYED IN DERMATOLOGICAL PREPARATIONS

The study was aimed at achieving extractive solutions rich in active principles from flowersof *Calendulae officinalis*, in advantageous conditions. Depending on the chemical composition of the vegetal raw matter the authors have investigated extraction conditions with various methods : selective and succesive extraction with lipophillic solvents and with hydrophillic solvents, by recirculation of the solvent, refluxing, maceration and digestion. The efficiency of the solvents, and of the extraction procedures applied was evaluated quantitatively by determination of the flavone contents, expressed as rutoside and carotene contents expressed as B-carotene.

РЕЗЮМЕ

Елиза Гафицану, Иоана Матей, Юлиана Попович, Дойна Лазэр, М. И. Лазэр, Силвия Дрэгич — ХАРАКТЕРИЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ФРАКЦИЯХ КАЛЕНДУЛЕ ФЛОС, УПОТРЕБЛЯЕМЫЕ ДЛЯ ДЕРМОПРЕПАРАТАХ

Осуществленное исследованиэ имела ввиду осуществление экстрактивных веществ, богатые активными принципами из цветах *Календуле оффициналис* при условиях выгодной экстракции.

В зависимости от химического содержания растительного изделия, исследовались условия экстракции разными способами: селективная и последовательная экстракция липофильными и хидрофильными растворителями, рециркуляцией рстворителя, рефлюксацией, мацерацией и пищеварением.

Еффективность растворителей и способов экстракции, которые применялись количественно оценилась определением содержания флавонах, выраженные в рутоидах и в каротенах, выраженные а Б-каротен.

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
SOCIETATEA DE GERONTOLOGIE ȘI GERIATRIE

ANUNȚ

În zilele de 9—11 iunie 1988, va avea loc la București, Congresul Național de Gerontologie și Geriatrie cu participare internațională

Tematica Congresului este următoarea :

— biometria îmbătrînirii ;
— îmbătrînirea cerebrală ;
— participarea vîrstnicilor la viața socio-economică;
— varia.

În cadrul congresului va avea loc simpozionul „Terapia Aslan".

Rezumatele lucrărilor, de maximum 25 rînduri, dactilografiate la 2 rînduri, în 2 exemplare în limba română și 2 exemplare în limba engleză, vor fi expediate pînă la data de 1 decembrie 1987, pe adresa Institutului Național de Gerontologie și Geriatrie, București str. Mănăstirea Căldărușani nr. 9, sectorul 1, cod 78178, „Secretariat Congres".

Se va asigura traducerea simultană în limba engleză.

Taxa de participare la congres este de 4000 lei, asigurîndu-se volumul cu lucrările congresului, programul, mapa și cocteilul.

Taxa de participare va fi achitată pînă la data de 1 decembrie 1987, direct la sediul U.S.S.M., București sau prin mandat poștal pe adresa : Societatea de Gerontologie și Geriatrie, București, cod 70754, Str. Progresului nr. 10, sectorul 1, nr. cont 45.107.06.2a la BNRSR — Sucursala Municipiului București, cu mențiunea „Taxă Congres Gerontologie și Geriatrie".

Medicii în perioada de perfecționare, medicii stagiari și specialiștii din alte sectoare decît cel medical vor achita, în aceleași condiții de participare, taxa de 200 lei.

Lucrările congresului se vor desfășura în sălile Hotelului Intercontinental.

PREȘEDINTE,
Acad. prof. dr. ANA ASLAN

SECRETAR CONGRES,
Dr. MIRCEA DUMITRIU

Cercetări comparative asupra flavonelor din Primula officinalis (L) Hill și P. acaulis (L) Grufb. (Familia Primulaceae)

Viorica Hodișan, Lucia Grecu
Facultatea de Farmacie, I.M.F., Cluj-Napoca

REZUMAT

Prin studiul comparativ al flavoanelor din Primul officinalis *(L) Hill și* P. acaulis *(L) Grufb., cele mai răspîndite primulacee în flora spontană a României, s-au evidențiat 14 glicozide flavonice și 4 agliconi în* Primula officinalis *și 7 glicozide, respectiv 3 agliconi în* P. acaulis. *Cu ajutorul substanțelor de referință s-au identificat rutozid, iar dintre agliconi quercetol, kempferol și apigenina în ambele cazuri.*

Antocianii, respectiv, leucoantocianii, sînt comuni ambelor specii, identificîndu-se leucodelfinidina și leucocianidină.

Conținutul în flavone în Primula officinalis *este cuprins între 0,56 și 0,59 g%; în flori quercetolul, rezultat în urma hidrolizei, este în medie de 37,50 mg%. La* P. acaulis, *conținutul în flavone este de 0,60—1,20 g%, iar quercetolul de 41,50 mg%.*

Conținutul în leucoantocieni este mai mare la Primula acaulis, *fiind între 0,90 și 1,58 g%; la* P. officinalis, *în flori este de 0,31%.*

Plante medicinale
Flavone

Genul *Primula* este reprezentat în flora spontană a României prin 11 specii de plante ierboase, perene. Sînt plante care înfloresc primăvara de timpuriu și au florile galbene, galbene-aurii, solitare sau grupate în inflorescențe umbeliforme sau racemoase (20).

În scop medicinal se folosesc *Primula officinalis* (L) Hill și *P. clatior* (L) Grufb., rizomul și rădăcinile acestora fiind oficinale în Farmacopeea Română ediția a IX-a (19). Părțile lor aeriene, — *Primulae herba* — sau numai florile — *Primulae flos* — sub formă de infuzii sau decocturi, sînt indicate ca expectorante în afecțiuni ale căilor respiratorii (bronșite, pneumonii, slab spasmolitice, diuretice, adjuvante în tratamentul gutei; extractele hidroalcoolice au proprietăți antihemoragice, cicatrizante și calmante și sînt eficiente în tratamentul rănilor, în contuzii, în reumatism și în tratamente cosmetice (1—2, 4, 6—8, 10, 18, 23). Saponinele triterpenice izolate din *Primula officinalis* au remarcabile proprietăți antimicotice, antimicrobiene și spermicidale (14, 17); din *Primulae officinale herba* se obțin tincturi homeopate (21).

Pentru valorificarea superioară a părților aeriene ale speciilor *Prmiula officinalis* (L) Hill — ciubotica cucului și *P. acaulis* (L) Grufb. — griciorei, primulaceele cele mai răspîndite în flora spontană a României,

am cercetat, calitativ și cantitativ, flavonele propriu-zise și leucoantocianii.

În compoziția chimică a acestor specii, îndeosebi în *Primula officinalis*, sînt menționați următorii componenți : saponine triterpenice, ulei volatil, flavone (în majoritate glicozide ale kempferolului și quercetolului, gentiobioside, vitamine C), (1, 2, 8—10, 16, 18, 19). Din flori Paris izolează o dirhamnozidă a kempferolului (5, 7, 4-trihydroxyflavonol) pe care o numește provizoriu primula-flavonozidă (16).

MATERIAL ȘI METODE

S-a lucrat pe produse vegetale uscate și pulverizate, *Primulae officinale herba*, respectiv *P. acaule herba* recoltate din flora spontană și, în paralel, pe extracte fluide obținute din acestea.

Flavone. Glicozidele flavonice au fost cercetate din extracte metanolice 2%. Analiza calitativă a lor s-a efectuat prin cromatografie în strat subțire, tehnicile uni- și bidimensională. În primul caz s-a utilizat ca fază staționară strat de silicagel G (Merck) și sistemul acetat de etil-acid formic- apă (6:1:1) (5) și strat de celuloză microcristalină și sistemele acid acetic 60% și amestecul cloroform-acid acetic-apă (15). Pentru tehnica bidimensională s-a utilizat strat de celuloză microcristalină iar ca fază mobilă sistemele indicate de Mabry și colab. (fig 1, 2).

Agliconii s-au obținut prin hidroliza a 10 ml extract metanolic 2% cu 10 ml HCl 2 N efectuată la cald, timp de 4 ore, urmată de extragerea lor în acetat de etil, evaporare la sec și reluare în metanol. Pentru cromatografie s-a utilizat strat de celuloză iar ca fază mobilă sistemul Forestal pentru agliconi (12).

Analiza cromatogramelor, în toate cazurile, s-a efectuat în lumină ultravioletă, înainte și după revelare $AlCl_3$ soluție etanolică 5% sau cu $ZrOCl_2$ soluție metanolică 2% (12,22). Pentru identificare s-au utilizat soluții metanolice 0,01% rutozid, respectiv pentru agliconi soluții de quercetol, kempferol și apigenină.

Conținutul în flavone s-a determinat prin metoda spectrofotometrică prevăzută la *Cynarae folium* în Farmacopeea Română (19); s-a determinat și conținutul în quercetol rezultat prin hidroliză din florile speciilor, prin CSS preparativă pe strat de celuloză după tehnica lui Mabry (12). Calcularea lui s-a făcut cu ajutorul unei curbe etalon efectuată cu quercetol pur ; citirile s-au făcut la Spekol la 458 nm.

Leucoantocianii. Cercetarea leucoantocianilor s-a efectuat prin transformarea lor în antociani (11). Extractele hidrolizate au fost tratate, într-o pîlnie de separare, cu n-butanol, butanolul s-a evaporat iar reziduul s-a reluat în metanol. Cromatografierea lor s-a efectuat pe strat de celulolză în sistem Forestal pentru agliconi. În paralel cu probele, au fost cromatografiate extracte obținute din fructe din *Vaccinium myrtillus* și din flori de *Althaea rosea* pentru identificarea spoturilor.

Cantitativ, antocianii s-au determinat după formula indicată de Lebreton (1): $g^0/_{00} = \frac{DO}{e} MV \frac{1}{P}$ în care :

DC = extincția la 550 nm
c = absorbția moleculară a cianidinei
M = masa moleculară a cianidinei
V = volumul extractului
P = greutatea produsului (g)

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Flavone. Prin tehnica unidimensională, în sistemul cloroform-acid acetic-apă, care s-a dovedit cel mai bun, din extractele de *Primula officinalis* se separă 5 spoturi de culoare galbenă în UV la Rf=0,46 , 0,53, 0,64, 0,76 (corespunde cu rutozidul) și 0,86. Primele 4 spoturi se evidențiază și în cazul extractelor de *P. acaulis*. Bidimensional, la *Primula officinalis* în lumină UV se evidențiază 14 spoturi galbene — glicozide — și 4 de culoare galbenă-verzuie — agliconi liberi — (fig. 1) iar la *P. acaulis* 7 spoturi galbene — glicozide — și 3 galbene-verzui (fig. 2).

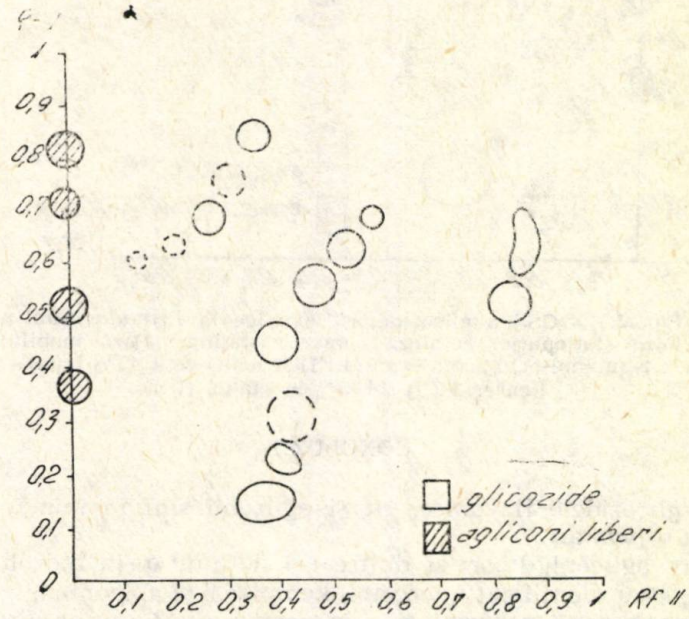


Fig. 1. — CSS a glicozidelor flavonice la *Primula officinalis*.

Agliconii, rezultați în urma hidrolizei acide, sînt în număr de 4 la *Primula officinalis* și de 3 la *P. acaulis*, identificîndu-se în ambele cazuri quercetol (Rf=0,34—36), kempferol (Rf=0,50—52) și apigenină (Rf=0,70).

Conținutul în flavone la *Primula officinalis* este în flori 0,95 g%, în frunze 0,82% și în extract fluid obținut din herba înflorită 0,50 g%, iar *P. acaulis* în flori 1,20 g%, în frunze 0,72 g% și în extract fluid 0,60 g%, valori exprimate în rutozid. Conținutul în quercetol, după hidroliza extractelor din flori de *Primula officinalis* este de 37,50 mg% iar din flori de *P. acaulis* de 41,50 mg%.

Leucoantociani. Prin tratare cu HCl la cald și extragere în n-butanol, din cele 2 extracte de *Primula* se separă prin cromatografie cîte 3 spoturi de culoare roșie-vișinie în lumina zilei la Rf=0,30 care corespunde cu delfinidina, la Rf=0,45 care corespunde cu cianidina și la Rf=0,68, spot ce nu s-a identificat.

Sub aspect cantitativ la *Primula officinalis* s-a determinat un conținut în antociani, respectiv în leucoantociani în flori de 0,31 g%, urme în frunze, iar la *P. acaulis* în flori 1,58 g% și în frunze 0,90 g%.

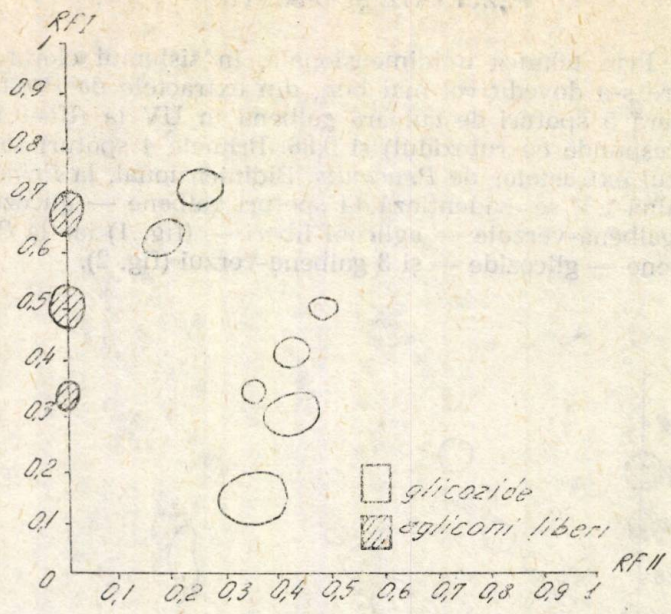


Fig. 2. — CSS a glicozidelor flavonice la *Primula acaulis*. Fază staționară: celuloză microcristalină Fază mobilă: I t-butanol-acid acetic-apă (3:1'1) II acid acetic 15% Identificare: $AlCl_3$ sol. 5% în etanol (UV).

CONCLUZII

Atît glicozidele flavonice, cît și agliconii sînt în număr mai mare la *Primula officinalis*.

Dintre agliconii liberi și dintre cei obținuți prin hidroliză, la ambele specii, s-au identificat quercetol, kempferol și apigenină.

Leucoantocianii separați sînt în număr de 3 atît la *Primula officinalis* cît și la *P. acaulis;* s-a identificat leucodelfinidină și cianidină.

Sub aspect cantitativ, conținutul în flavone și în leucoantociani este mai ridicat la *Primula acaulis*.

BIBLIOGRAFIE

1. ADAM L., HICKEL W. — Revista Medicală, Tg. Mureș, 1957, 3. 3. 59—62.
2. BEZANGER-BEAUQUESNE L. și colab. — Plantes medicinales des regions temperées, Maloine S. A., Paris, 1980.
3. BILIK A., SAPERS G. M. — J. Agric. Food hem., 1985, 33, 2, 226—228.
4. BOJOR O., ALEXAN M. — Plantele medicinale izvor de sănătate, Edit. Ceres, București, 1981.
5. BRASSEUR T., ANGENOT L. — J. Pharm. Belg., 1984, 39, 1, 15.
6. COSMOVICI LUDMILA, ZISU L. — Ghid cosmetic, Edit. Medicală, București, 1982.
7. CRĂCIUN F., BOJOR O., ALEXAN M. — Farmacia naturii, II Edit. Ceres, București, 1977.
8. GREC LUCIA — Studiul farmacognostic al unor specii de Primula din R.S.R., Teză de doctorat, I.M.F., Cluj, 1976.

9. HARBORNE J. B., MABRY T. J., MABRY HELGA — The flavonoids, Chap. and Hall, London, 1975.
10. IONESCU STOIAN ST., SAVOPOL E. — Extracte farmaceutice vegetale, Edit. Medicală, București, 1977.
11. LEBRETON PH., JAY M., VOIRIN B. — Chimie Analitique, 1967, 49, 7, 375.
12. MABRY T. J., MARKHAM K. R., THOMAS M. B. — The sistematic identification of flavonoids, Springer Verlag, Berlin, 1970.
13. MARKAKIS P. — Anthocianins as food color, Akad. Press, Londra, New York, 1982.
14. MĂRGINEANU C. și colab., — Clujul Medical, 1978, 51, 3, 254—258.
15. KARL CHR., MÜLLER G., PEDERSON P. A. — Planta Medica, 1981, 41, 1, 96—99.
16. PARIS M. R. — Ann. Pharm. Franç., 1959, 17, 5, 331—335.
17. PRIMORAC M., SECULOVIC D., ANTONIC S. — Pharmazie, 1985, 40, 8, 585.
18. VALNET J. Phytotherapie, Maloine S. A., Paris, 1979.
19. * * * — Farmacopeea Română, ediția a IX-a, Edit. edicală, București, 1976.
20. * * * — Flora R.S.R., vol. VII, Edit. Acad. R.S.R., București, 1966.
21. * * * — Homeopatische Arzneibuch 1 Deutsche Apot., Frankfurt, 1981.
22. * * * — Dyeing Reagents for thin layer and paper chromatography, Merck Edit., Darmstadt, 1974.
23. * * * — Produse farmaceutice folosite în practica medicală Edit. Medicală, București.

Articol intrat în redacție la 13.X.1986,

Indicele de clasificare : 615.32:547.814.5

SUMMARY

Viorica Hodișan, Lucia Grecu — COMPARATIVE STUDIES ON FLAVONES FROM PRIMULA OFFICINALIS (L) HILL, AND P. ACAULIS (L) GRUFB. (PRIMULACEAE FAMILY)

The comparative study of flavones from *Primula officinalis* (L) Hill, and *P. Acaulis* (L) Grufb., the most frequently encountered members of the primulaceae family on the territory of our country has evidenced 14 flavonic glycosides, and 4 aglycones in *Primula officinalis*, and 7 glycosides, and 3 aglycones in *P. acaulis*. With the aid of reference substances rutoside was identified and in the group of aglycones, quercetole, kempferol and apigenine were found in both primulae. Antocyans, and leucoantocyans respectively, are common to both species, and leucodelphinidine as well as leucocyanidine were identified. The flavone contents of *P. officinalis* is between 0.56 and 0.59 g%. In the flowers quercetole, resulting from hydrolysis, averaged 37.5 mg%. In *P. acaulis* the flavone contents varied between 0.60 and 1.20 g%, and quercetole was 41.5 mg% in he average. The leucoantocyans contents was higher in *P. acaulis* (between 0.90 and 1.59 g%). In the flowers from *P. officinalis* leucoantocyans averaged 0.31 g%.

РЕЗЮМЕ

Виорика Ходишан, Лучия Греку — СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОРАНИЯ ПО ФЛАВОНАМ ИЗ ПРИМУЛА ОФФИЦИНАЛИС (Л) ХИЛЛ И П. АКАУЛИС (Л) ГРУФ (ФАМИЛИИ ПРИМУЛАЧЕЕ)

Сравнительным исследованием флавонах из *Примула оффициналисъ* (Л) ХИЛЛ и П. акаулис (Л) Груф, более распределенные примулацеи в спонтанной флоры Румынии, выявились 14 гликозиды флавонице и 4 агликони в *Примула оффициналис* и 7 гликозидах, соответственно 3 агликони в *П. акаулис*. С помощью разъяснительными веществами отождествляются рутозид, и среди агликони керцетол, кемпферол и эпигенин в обеих случаях.

Антоциан, леукоантоцианы соответственно, общие для обеих специях, отождествляясь леукоделфинидин и леукоцианидин.

Содержание в флавоных *Примулы оффициналис* от 0,56 и 0,59 г%; в цветах керцетол, полученный от хидролизы, в среднем 37,50 мг%. У *П. акаулис*, содержание флавон 0,60—1,20 г%, а керцетол 41,50 мг%.

Содержание леукоантоциенах больше у *Примула акаулис* от 0,90 и 1,58 г%; у *П. оффициналис*, в цветах 0,31%.

SUMARUL REVISTEI PE ANUL 1987

LUCRĂRI ORIGINALE, CERCETĂRI EXPERIMENTALE

GH. MORAIT, M. MORAIT, E. ELIOPOULOS — Contribuţii la dozarea doxiciclinei (Vibramicinei). *Nota II.* Noi metode de dozare chimică şi spectrofotometrică 1

VASILICA ANTONESCU, SANDA IOSIF, IRINA PREDESCU, C. Georgescu— Contribuţii la studiul extractului de *Vaccinium myrtillus. Nota I.* Analiza fizico-chimică 11

VERONICA NACEA, JUDITH FÜLÖP — Determinarea spectrofotometrică a unui nou compus cu acţiune analgezică: tereftal-di (N-fenil)-piperazida 21

IOANA ŞARAMET, ELENA RĂDĂU — Noi tioamine N-substituite . . . 31

ANETA, VERBUŢĂ, ILEANA COJOCARU, I. MÎNDRECI, M. LAZĂR, DOINA LAZĂR, N. OLARU, MARINELA PÎRNUŢĂ, GEORGETA RUSU— Realizarea unor comprimate cu p-acetil-aminobenzoat de dimetilaminoetanol 41

ELENA CRISTEA, ANA TĂTARU — Cercetări în seria derivaţilor de triazină (Nota II) 47

P. PETCU, Z. URAY, E. BORDAŞ, ECATERINA ANDRONESCU — Acţiunea medicamentului Tonobil asupra eritropoiezei medulare 55

A. GYERESI, KLAUDIA SZANTHO, L. FÜLÖP — Determinarea conţinutului de alcaloizi totali, respectiv de hiosciamină din *Scopoliae luridae radia* şi din extracte de *Scopolia* 59

ŞT. RĂMĂŞDAN, ELENA CRISTEA, DENISA MIHELE, ANA TĂTARU — Modificările unor constante biochimice sub influenţa unor noi derivaţi de triazină, Nota I. 65

V. ZOTA, ELENA GRIGORESCU, PARASCHIVA BÎRZĂ, GABRIELA POPA — Cercetări în clasa tiazolidinelor. *Nota II.* 71

E. CUREA, I. BAN, E. S. LEUCUŢA, M. BOJIŢĂ, E. CADRAN — Influenţa tamponării şi a microcapsulării acidului acetilsalicilic în comprimare asupra vitezei de dizolvare şi a biodisponibilităţii 75

DENISA MIHELE, ELENA CRISTEA, ŞT. TĂMĂŞDAN, ANA TĂTARU — Modificările unor constante biochimice sub influenţa unor noi derivaţi de triazină, Nota II 83

ELENA CRISTEA, JANA SOARE, AL MISSIR, ILEANA CHIRIŢĂ, MIHAELA DINULESCU, DOMNICA ENESCU — Cercetări farmacodinamice asupra unor noi derivaţi de tiouree. *Nota II* 89

IULIANA POPOVICI, ELISA GAFIŢANU, STERIANA ERAHA, FLORICA DIMA, MARIA VASILESCU — Caracterizarea reologică a unor dermoemulsii de tip U/A cu lactobionat de eritromicină, utilizate în tratamentul piodermitelor. *Nota II.* 97

S. E. LEUCUŢA — Influenţa solubilităţii şi coeficientului de repartiţie a fluocinolon-acetonidului în fazele unui unguent-emulsie (ulei în apă) asupra difuziei *in vitro* şi a biodisponibilităţii cutanate 109

S. E. LEUCUŢA, R. RIŞCA, D. DAICOVICIU — Influenţa administrării metronidazolului sub forma de microsfere de gelatină asupra farmacocineticii pulmonare a unei doze unice intravenoase la şobolani 119

P. PETCU, E. BORDAŞ, Z. URAY, ECATERINA ANDRONESCU, A. ZEIC — Modificări medulo-sanguine, morfo-citochimice induse prin chimioterapie la şobolani trataţi cu „Tonobil" 129

S. E. LEUCUŢA, D. PORUŢIU, M. POLINICENCU — Microsfere şi microcapsule cu adriamicină: preparare şi cinetica cedării *in vitro* . . 133

C. POLINICENCU, S. E. LEUCUŢA, D. ZDRENGHEA, AGOTA KOVATS, N. STĂNCIOIU — Influenţa formulării asupra cineticii eliberării şi a biodisponibilităţii clorurii de potasiu din comprimate cu matriţă hidrofilă . 139

VIORICA NACEA, VICTORIA ALDEA — Caracterul reducător al clonidinei faţă de oxidanţi anorganici 149

ELIZA GAFIȚANU, IULIANA POPOVICI, STERIANA BRAHA, V. DORNEANU, IULIA VASILIU, IULIANA DIMOFTE, VIOICA TRANDAFIR — Geluri pe, bază de colagen, cu produse din plante, utilizate în tratamentul metastazelor și mastodiniilor 155
VIORICA FILIPAȘ, S. E. LEUCUȚA, MARIA ALDEA, LUMINIȚA VIDA SIMITI — Cinetica medării *in vitro* și biodisponibilitatea nitroglicerinei dintr-un unguent lipofil, un film polimeric hidrosolubil și un sistem terapeutic transcutanat 161
GEORGETA LUCA, DRAGA TODOROV — Helebrina cardiotonic cu acțiune rapidă și de lungă durată 171
V. C. NONINSKI, E. B. SOBOWALE, L. A. DRYANOVSKA-NONINSKA-Anodic polarographic determination of Etamcylate (Dicynone) with the help of the self-cleaning rotating electrode (SRE) 175
AURELIA CRISTEA, ELENA BĂDĂU, AURELIA ZAFINDRAVELO — Compuși 1, 3-disubstituiți ai 2-propranololului și propanonei cu acțiune analgezică 181
D. OȚELEANU, GH. ZUCHI, MARIA-AGNES DIMITRIU — Sinteza unor azometine : para-nitrobenziliden-2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli . 193
G. RACZ, ALEXANDRINA OȘAN — Influența cloramfenicolului asupra activității pepsinei *in vitro* 201
IULIANA POPOVICI, ELIZA GAFIȚEANU, IULIA VASILIU, FLORICA DIMA, MARIA VASILESCU — Cercetări privind penetrația percutanată a unor dermopreparate cu lectobionat de eritromicină utilizate în tratamentul piodermitelor. Nota III 209
IULIANA POPOVICI, M. PAVELESCU, MARIA STAN, MARIA MIFTODE, V. DORNEANU, I. MÎNDRECI, ELIZA GAFIȚANU, M. DUMITRACHE — Cinetica cedării *in vitro* și biodisponibilitatea Mg^{2+} din comprimatele de Trimag 219
DOINA GHIRAN, S. E. LEUCUȚA, I. D. POSTESCU — Cercetări farmacocinetice și de preformulare asupra unor precursori bioreversibili ai metronidazolului 225
V. NACEA, L. DINICUȚ — Caracterul reductor al hidroxizinei față de oxidanți anorganici 235
ELIZA GAFIȚANU, IOANA MATEI, IULIANA POPOVICI, DOINA LAZĂR, M. I. LAZĂR, SILVIA DRAGHICI — Caracterizarea unor fracțiuni extractive din *Calendulae Flos* utilizate în dermopreparate 241
VIORICA HODIȘAN, LUCIA GRECU — Cercetări comparative asupra flevonelor din *Primula officinalis* (L) Hill și *P. Acaulis* (L) Grufb Familia *Primulaceae)* 249

CRONICI

REFERATE

INDEXUL AUTORILOR

A

Aldea Maria 161
Aldea Victoria 149
Andronescu Ecaterina 55, 129
Antonescu Vasilica 11

B

Ban I. 75
Bădău Elena 31, 181
Bîrză Paraschiva 71
Bojiță M. 75
Bordaș E. 55, 129
Braha Steriana 97, 155

C

Cardan E. 75
Chiriță Ileana 89
Cojocaru Ileana 41
Cristea Aurelia 181
Cristea Elena 47, 65, 83, 89
Curea E. 75

D

Diacoviciu D. 119
Dima Florica 97, 209
Dimitriu Maria Agnes 193
Dimofte Iuliana 155
Dinulescu Mihaela 89
Dincuț L. 235
Dorneanu V. 155, 219
Drăghici Silvia 241
Dryanovska-Noninska A. L. 175
Dumitrache M. 219

E

Eliopoulos E. 1
Enescu Domnica 89

F

Filipaș Viorica 161
Fülöp Judith 21
Fülöp L. 59

G

Gafițanu Eliza 97, 155, 209, 219, 241
Georgescu C. 11
Ghiran Doina 225
Grecu Lucia 249
Grigorescu Elena 71
Gyeresi A. 59

H

Hodișan Viorica 249

I

Iosif Sanda 1

K

Kovats Agota 139

L

Lazăr Doina 41, 241
Lazăr M. 41, 241
Leucuța S. E. 75, 109, 119, 133, 139, 161, 225
Luca Georgeta 171

M

Matei Ioana 241
Miftode Maria 219
Mihele Denisa 65, 83
Missir Al. 89
Mîndreci I. 41, 219
Morait Gh. 1
Morait M. 1

N

Nacea Veronica 21, 149, 235
Noninski C. V. 175

O

Olaru N. 41
Oșan Alexandrina 201
Oțeleanu D. 193

P

Pavelescu M. 219
Petcu P. 55, 129
Pîrnuță Marinela 41
Polinicencu C. 133
Polinicencu M. 139
Popa Gabriela 71
Popovici Iuliana 97, 155, 209, 219, 241
Poruțiu D. 133
Postescu D. J. 225
Predescu Irina 11

R

Racz G. 201
Rișca R. 119
Rusu Georgeta 41

S

Soare Jana 89
Sobowale B. E. 175
Stan Maria 219
Stăncioiu N. 139
Szantho Klaudia 59

Ș

Șaromet Ioana 31

T

Tămăsdan Șt. 65, 83
Tătaru Ana 47, 65, 83
Todorov Draga 171
Trandafir Viorica 155

U

Uray Z. 555, 129

V

Vasilescu Maria 97, 209
Vasiliu Iulia 155, 209
Verbuță Aneta 41
Vida Simiti Luminița 161

Z

Zafindravelo Aurelia 181
Zdrenghea D. 139
Zeic A. 129
Zota V. 71
Zuchi Ghe 193

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Д. Оцеляну, Г. Зуки, Мария-Агнес Димитриу — Синтез некоторых азометинах: пара-нитробензилиден-2-амино-5-Р-меркапто-1,3,4-тиадиазоли 193

Г. Рач, Александрина Ошан — Влияние хлорамфеникола по деятельность пепсины *ин витро* 201

Юлиана Попович, Елиза Гафицану, Юлия Василиу, Флорика Дима, Мария Василеску — Исследования по ударающее проникновение некоторых дермопрепаратах на эритромициновым лактобионате, применяемые для лечения пиодермитах. *Заметка III* 209

Юлиана Попович, М. Павелеску, Мария Стан, Мария Мифтоде, В. Дорняну, И. Мындреч, Елиза Гафицану, М. Думитраке — Кинетика отдачи *ин витро* и биоресурсы M_g^{2+} таблетка ТРИМАГА 219

Дойна Гиран, С. Е. Леукуца, И. Д. Постеску — Фармококинетические исследования и преформулировки по биореверсивным прекурсорам метронидазоля 225

В. Нача, Л. Диникуц — Сокращающий характер хидроксизина сравнительно органических окислителях 235

Елиза Гафицану, Иоана Матей, Юлиана Попович, Дойна Лазэр, М. И. Лазэр, Силвия Дрэгич — Характеризование экстрактивных фракциях *Календуле* флос, употребляемые для дермопрепаратах 241

Виорика Ходишан, Лучия Греку — Сравнительные исследования по флавонам из *Примула оффичиналис* (Л) Хилл и *П. Акаулис* (Л) *Груф* (фамилии *Примулачее*) 249

Рефераты

1988 JUN 9

SUMAR

Pag.

D. Oţeleanu, Gh. Zuchi, Maria-Agnes Dimitriu — Sinteza unor azometine : para-nitrobenziliden-2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazoli 193

G. Racz, Alexandrina Oşan — Influenţa cloramfenicolului asupra activităţii pepsinei *in vitro* 201

Iuliana Popovici, Eliza Gafiţanu, Iulia Vasiliu, Florica Dima, Maria Vasilescu — Cercetări privind penetraţia percutanată a unor dermopreparate cu lactobionat de eritromicină utilizate în tratamentul piodermitelor. *Nota III* 209

Iuliana Popovici, M. Pavelescu, Maria Stan, Maria Miftode, V. Dorneanu, I. Mîndreci, Eliza Gafiţanu, M. Dumitrache — Cinetica cedării *in vitro* şi biodisponibilitatea Mg^{2+} din comprimatele de Trimag. 219

Doina Ghiran, S E. Leucuţa, I. D. Postescu — Cercetări farmacocinetice şi de preformulare asupra unor precursori bioreversibili ai metronidazolului 225

V. Nacea, L. Dimicuţ — Caracterul reducător al hidroxizinei faţă de oxidanţi anorganici 235

Eliza Gafiţanu Ioana Matei, Iuliana Popovici, Doina Lazăr, I. M. Lazăr, Silvia Drăghici — Caracterizarea unor fracţiuni extractive din *Calendulae* Flos utilizate în dermopreparate 241

Viorica Hodişan, Lucia Grecu — Cercetări comparative asupra flavonelor din *Primula officinalis* (L) Hill şi *P. Acaulis* (L) *Grufb.* (Familia *Primulaceae*) 249

Referate

„Cititorii din străinătate se pot abona prin ROMPRESFILATELIA sectorul Export-Import presă P. O. Box 12-201 Telex 10376, Bucureşti, Calea Griviţei nr. 64—66".

EDITURA MEDICALĂ

I. P. Informaţia c. 1437

Lei 10